

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202290182 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.04.11

(51) Int. Cl. C07K 16/12 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.07.07

(54) АНТИТЕЛА, СПЕЦИФИЧЕСКИ РАСПОЗНАЮЩИЕ PcrV PSEUDOMONAS, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) PCT/CN2019/095181

(72) Изобретатель:

(32) 2019.07.09

Юй Маожун, Ли Чжун, Ван Чао (CN)

(33) CN

(74) Представитель:

(86) PCT/CN2020/100592

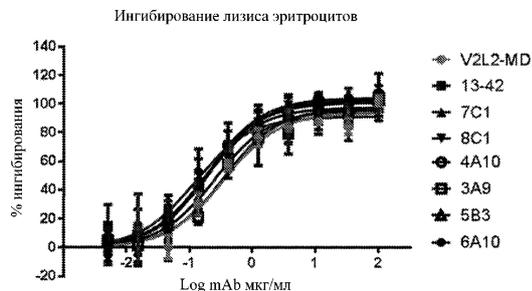
Хмара М.В. (RU)

(87) WO 2021/004446 2021.01.14

(71) Заявитель:

СТЕЙДСОН (БЕЙДЖИН)
БИОФАРМАСЬЮТИКАЛЗ КО., ЛТД.
(CN)

(57) В настоящей заявке предложены антитела, включающие их антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически распознают PcrV Pseudomonas. Также предложены способы получения и применения этих антител.



202290182

A1

A1

202290182

АНТИТЕЛА, СПЕЦИФИЧЕСКИ РАСПОЗНАЮЩИЕ PcrV *PSEUDOMONAS* И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ТЕКСТОВОМ ФАЙЛЕ ASCII

- 5 [0001] Содержание следующего представления в текстовом файле ASCII полностью включено в настоящий документ посредством ссылки: машиночитаемая форма (CRF) перечня последовательностей (название файла: 710262000340SEQLIST.TXT, дата записи: 31 марта, 2019 г., размер: 47 KB).

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

- 10 [0002] Настоящая заявка относится к антителам, которые специфически распознают PcrV от *Pseudomonas aeruginosa*, и способам их получения и применения, включая способы лечения и предотвращения инфекций, вызванных *Pseudomonas*.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

- 15 [0003] *Pseudomonas aeruginosa* представляет собой облигатно аэробную грамотрицательную бациллу, широко распространенную в природе. Хотя ее патогенность обычно низкая, она является возбудителем оппортунистических инфекций, часто возникающих у пациентов, страдающих различными ранее существовавшими заболеваниями, такими как рак, диабет, иммунодефицитные
- 20 заболевания, а также у пациентов, получающих лекарственные средства, обладающие действием, подавляющим иммунную систему. Пациенты с поврежденной слизистой оболочкой кожи подвержены инфекциям *P. aeruginosa*, в то время как это также представляет значительный риск для пациентов с хроническими структурными заболеваниями легких (такими как ХОБЛ или
- 25 кистозный фиброз). *P. aeruginosa* часто может вызывать пневмонию, инфекцию мочевыводящих путей, сепсис и т.п., что часто приводит к тяжелым последствиям. До 10% внутрибольничных инфекций связано с *P. aeruginosa*, при этом смертность больных с бактериемией *P. aeruginosa* приближается к 40%. В клинических областях инфекция *P. aeruginosa* считается одной из наиболее трудно
- 30 поддающихся лечению инфекций не только потому, что *P. aeruginosa* по своей природе имеет низкую чувствительность к существующим антибиотикам, но также из-за ее высокой склонности к приобретению устойчивости к различным

антибиотикам. Таким образом, стратегия разработки арсенала антибиотиков имеет ограниченные преимущества в борьбе с инфекциями, вызванными *P. aeruginosa*.

[0004] *Pseudomonas aeruginosa* является основной причиной внутрибольничных инфекций, особенно у пациентов с искусственной вентиляцией легких, и основной причиной смерти у пациентов с кистозным фиброзом. Ключевым фактором вирулентности, связанным с тяжестью заболевания, является система секреции *P. aeruginosa* типа III (T3SS), которая вводит бактериальные токсины непосредственно в цитоплазму клеток-хозяев. Высокая цитотоксичность *Pseudomonas aeruginosa* проявляется инъекцией токсина в эукариотическую клетку через систему секреции экзотоксина III типа (T3SS). PcrV представляет собой белок из 294 остатков (номер доступа NCBI AAC45935, SEQ NO: 71), составляющий систему секреции экзотоксина типа III, и последовательность оперона, кодирующая его, находится в открытом доступе (US 6551795, Yahr, T. L. et al., *J. Bacteriol.*, 1997, vol. 179, p. 7165). Белок PcrV, расположенный на конце комплекса инжектисомы T3SS, необходим для функции T3SS и является хорошо проверенной мишенью в животных моделях иммунопрофилактических стратегий, нацеленных на *P. aeruginosa*. *P. aeruginosa* T3SS является хорошо проверенной мишенью для вмешательства при инфекциях, вызванных этим условно-патогенным микроорганизмом. Как активная вакцинация компонентными белками T3SS, так и пассивная иммунотерапия, нацеленная на PcrV, сильно ослабляют заболевание *P. aeruginosa* на животных моделях. Поскольку контроль PcrV может привести к терапевтическому средству для борьбы с инфекцией *Pseudomonas aeruginosa* (T. Sawa et al., *Nature Medicine*, 1999, vol. 5, p. 392), сообщается о поликлональных антителах (Shime N et al., *J. Immunol.* 2001, vol. 167, p. 5880, Imamura Y et al., *Eur. Respir. J.*, 2007, Vol. 29, p. 965) и моноклональных анти-PcrV антителах (WO2002064161A2, Karine Faure et al., *J. Immune. Based. Therapies and Vaccines*, 2003, Vol. 1, Dara W. Frank et al., *J. Infect. Disease*, 2002, Vol. 186, p. 64), обладающих нейтрализующей активностью. Однако поликлональные антитела трудно гуманизировать и использовать в качестве фармацевтических композиций из-за сложности улучшения антигенности. Анти-PcrV антитело, обозначенное как V2L2, описано Warrener et al., 2014, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 58, 4384–4391. Пегелированный Fab-фрагмент Mab

против PcrV, основанный на PcrV-специфическом мышинном моноклональном антителе MAb166, неактивен для предотвращения респираторных инфекций, вызванных *P. aeruginosa*, у пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких. Хотя MAb166 эффективно блокирует T3SS *P. aeruginosa in vitro*, для защиты в моделях на животных необходимы относительно высокие дозы антител. В настоящей заявке предложены новые mAb против PcrV, которые продемонстрировали сильное ингибирование PcrV *in vitro* и *in vivo*.

[0005] Раскрытия всех публикаций, патентов, патентных заявок и опубликованных патентных заявок, упомянутых в настоящем документе, полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] В настоящем изобретении предложено выделенное анти-PcrV антитело, которое специфически связывается с эпитопом на PcrV *Pseudomonas*, и способы его применения для лечения инфекций *Pseudomonas*.

[0007] В одном аспекте в настоящем изобретении предложено выделенное анти-PcrV антитело, которое специфически связывается с эпитопом на PcrV *Pseudomonas*, при этом эпитоп содержит одну, две, три, четыре, пять или шесть аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 PcrV *Pseudomonas*. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело связывается с PcrV *Pseudomonas* с Kd от примерно 0,1 пМ до примерно 1 нМ.

[0008] В одном аспекте в настоящей заявке предложено выделенное анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело содержит переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий: определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1, содержащую X₁X₂X₃MS (SEQ ID NO: 39), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X₁ представляет собой D или S, X₂ представляет собой Y или N и X₃ представляет собой P, H, Y или S; HC-CDR2, содержащую X₁ISESGGSTX₂X₃ADSVKG (SEQ ID NO: 40), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X₁ представляет собой G или V; X₂ представляет собой N или Y; и X₃ представляет собой D или Y; и HC-CDR3, содержащую GRFX₁X₂X₃X₄X₅X₆FX₇RAVYGMDV (SEQ ID NO: 41), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен,

причем X_1 представляет собой S или C, X_2 представляет собой T, G, D, Y, Q или A, X_3 представляет собой S, D, N, E, L, A, или Y, X_4 представляет собой S, T, Y, или A, X_5 представляет собой S, H, Q, A, R, K, G, E, Y или D, X_6 представляет собой H или C, и X_7 представляет собой F или Y; и переменный домен легкой цепи (VL),
 5 содержащий: определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1, содержащую RASQGIX₁SYLA (SEQ ID NO: 42), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой S или R; LC-CDR2, содержащую AASTLQS (SEQ ID NO: 34), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; и LC-CDR3, содержащую QQLX₁SYPLX₂ (SEQ
 10 ID NO: 43), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой S, N или K, и X_2 представляет собой S или T.

[0009] В некоторых вариантах реализации предложено выделенное анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело содержит переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий: определяющую комплементарность область тяжелой
 15 цепи (HC-CDR) 1, содержащую DX₁X₂MS (SEQ ID NO: 44), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой N или Y и X_2 представляет собой P, H, или Y; HC-CDR2, содержащую X₁ISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 45), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой G или V; и
 20 HC-CDR3, содержащую GRFSTX₁SX₂HFX₃RAVYGMDV (SEQ ID NO: 46), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой N, S, D, или L, X_2 представляет собой S или A, и X_3 представляет собой F или Y; и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий: определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1,
 25 содержащую RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; LC-CDR2, содержащую AASTLQS (SEQ ID NO: 34), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; и LC-CDR3, содержащую QQLSSYPLX₁ (SEQ ID NO: 47), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой
 30 S или T. В некоторых вариантах реализации предложено выделенное анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело содержит V_H, содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 из V_H, содержащего аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 48-64; и V_L, содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 из

V_L, содержащего аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-70.

[0010] В некоторых вариантах реализации согласно любому из выделенных анти-PcrV антител, описанных выше, анти-PcrV антитело содержит: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-8, или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 9-14, или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 15-31, или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32-33, или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 35-38, или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен.

[0011] В некоторых вариантах реализации согласно любому из выделенных анти-PcrV антител, описанных выше, анти-PcrV антитело содержит: (i) V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR; (ii) V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую

последовательность SEQ ID NO: 29, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[0012] В некоторых вариантах реализации согласно любому из выделенных анти-PcrV антител, описанных выше, анти-PcrV антитело содержит: (i) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR; (ii) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR; (iii) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;

или (iv) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

- 10 **[0013]** В некоторых вариантах реализации согласно любому из выделенных анти-PcrV антител, описанных выше, выделенное анти-PcrV антитело содержит: V_H , содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 48-64, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью по любой из SEQ ID
- 15 NO: 48-64; и V_L , содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-70, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью по любой из SEQ ID NO: 65-70. В некоторых вариантах реализации выделенное анти-PcrV антитело содержит: V_H , содержащий аминокислотную
- 20 последовательность любой из SEQ ID NO: 51-52 и 61-62, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью по любой из SEQ ID NO: 51-52 и 61-62; и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 или 67, или его вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности
- 25 последовательности с аминокислотной последовательностью по SEQ ID NO: 65 или 67. В некоторых вариантах реализации выделенное анти-PcrV антитело содержит: (i) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; (ii) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49, и V_L ,
- 30 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; (iii) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66; (iv) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51, и V_L ,

- содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; (v) V_H,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и V_L,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; а (vi) V_H,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53, и V_L,
5 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; (vii) V_H,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и V_L,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; (viii) V_H,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, и V_L,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; (ix) V_H,
10 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, и V_L,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; (x) V_H,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57, и V_L,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68; (xi) V_H,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58, и V_L,
15 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69; (xii) V_H,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и V_L,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; (xiii) V_H,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, и V_L,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; (xiv) V_H,
20 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и V_L,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; (xv) V_H,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, и V_L,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; (xvi) V_H,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, и V_L,
25 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; (xvii) V_H,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, и V_L,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; или (xviii) V_H,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, и V_L,
содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70.
- 30 **[0014]** В некоторых вариантах реализации предложено выделенное анти-PcrV антитело, которое специфически связывается с PcrV конкурентно с выделенным анти-PcrV антителом согласно любому из выделенных анти-PcrV антител, описанных выше. В некоторых вариантах реализации предложено выделенное

анти-PcrV антитело, которое специфически связывается с тем же эпитопом, как у любого из выделенных анти-PcrV антител, как описано выше.

[0015] В некоторых вариантах реализации согласно любому из выделенных анти-PcrV антител, описанных выше, анти-PcrV антитело содержит F-фрагмент. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело представляет собой полноразмерное IgG антитело. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело представляет собой полноразмерное IgG1 или IgG4 антитело. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело является химерным, человеческим или гуманизированным. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент, выбранный из группы, состоящей из Fab, Fab', F(ab)'₂, Fab'-SH, одноцепочечного Fv (scFv), Fv-фрагмента, dAb, Fd или диатела.

[0016] В некоторых вариантах реализации предложена выделенная(ые) молекула(ы) нуклеиновой кислоты, которая кодирует любое из анти-PcrV антител, описанных выше. В некоторых вариантах реализации предложен вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты в соответствии с любой из молекул нуклеиновой кислоты, описанных выше. В некоторых вариантах реализации предложена клетка-хозяин, содержащая любое из описанных выше анти-PcrV антител, любую из описанных выше молекул нуклеиновой кислоты или любой из описанных выше векторов. В некоторых вариантах реализации предложен способ получения анти-PcrV антитела, включающий: а) культивирование любой из клеток-хозяев, описанных выше, в условиях, эффективных для экспрессии анти-PcrV антитела; и б) получение экспрессированного анти-PcrV антитела из клетки-хозяина.

[0017] В некоторых вариантах реализации предложен способ предотвращения или лечения заболевания или состояния у индивидуума, нуждающегося в этом, включающий введение индивидууму эффективного количества анти-PcrV-антитела в соответствии с любым из анти-PcrV-антител, описанных выше, или фармацевтической композиции, содержащей анти-PcrV-антитело в соответствии с любой из фармацевтических композиций, описанных выше. В некоторых вариантах реализации предложено применение анти-PcrV-антитела в соответствии с любым из описанных выше анти-PcrV-антител, или фармацевтической композиции, содержащей анти-PcrV-антитело, в соответствии с

любой из фармацевтических композиций, описанных выше, для получения лекарственного средства для лечения заболевания или состояния. В некоторых вариантах реализации заболевание или состояние представляет собой патогенную инфекцию. В некоторых вариантах реализации инфекция представляет собой грамотрицательную бактериальную инфекцию. В некоторых вариантах реализации бактерия представляет собой *Pseudomonas aeruginosa*. В некоторых вариантах реализации заболевание или состояние включает один или более симптомов, вызванных инфекцией *Pseudomonas aeruginosa*. В некоторых вариантах реализации симптом включает один или более из лихорадки, озноба, усталости, боли в мышцах и суставах, припухлости суставов, головной боли, диареи, кожной сыпи, гноя в ранах, бактериемии, острой пневмонии или внутрибрюшинной инфекции.

[0018] В некоторых вариантах реализации согласно любому из способов лечения, описанных выше, способ дополнительно включает введение одного или более терапевтических агентов. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере одно из терапевтических агентов является антибиотиком. В некоторых вариантах реализации антибиотик представляет собой один или более из имипенема, тобрамицина, ципрофлоксацина, меропенема или азтреонама.

[0019] Также предложены фармацевтические композиции, наборы и готовые изделия, содержащие любое анти-PcrV антител, нуклеиновых кислот, векторов, выделенных клеток-хозяев, описанных выше.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0020] ФИГ. 1А и 1В демонстрируют способность лидерных оптимизированных антител ингибировать лизис эритроцитов по сравнению с исходным mAb 13-42 и эталонным антителом V2L2-MD.

[0021] ФИГ. 2А и 2В демонстрируют способность лидерных оптимизированных антител ингибировать лизис клеток А549 по сравнению с исходными mAb 13-42.

[0022] На ФИГ. 3 показана перекрестная реактивность лидерных оптимизированных антител 7B1, 7C1, 8C1 и 6D10 к частицам BV по сравнению с эталонными антителами Mab166 и V2L2-MD, измеренная с помощью ELISA.

[0023] На ФИГ. 4А-4Е показана перекрестная реактивность 13-42 mAb и оптимизированных антител 7B1, 7C1, 8C1 и 6D10 в отношении PcrV-негативных клеток А549, измеренная с помощью FACS.

[0024] ФИГ. 5А, 5В и 5С демонстрируют способность оптимизированных антител 7В1, 7С1 и 8С1 ингибировать лизис эритроцитов, вызванный штаммами О1-52/66, О16-177/81 и О6-57/66, соответственно, по сравнению с исходными mAb 13-42 и эталонным антителом V2L2-MD.

5 **[0025]** На ФИГ. 6А-6D показана способность оптимизированных антител 7В1, 7С1 и 8С1 ингибировать лизис клеток А549, вызванный штаммами О1-52/66, О6-57/66, О16-177/81 и О11-РА103, соответственно, по сравнению с исходными 13-42 mAb.

[0026] ФИГ. 7А и 7В демонстрируют способность лидерных оптимизированных антител 7В1, 7С1 и 3G3 профилактически улучшать выживаемость в модели
10 острой пневмонии у мышей по сравнению с исходными 13-42 mAb.

[0027] На ФИГ. 8А и 8В показана способность исходного 13-42 mAb, эталонного антитела V2L2-MD и лидерных оптимизированных антител 7В1, 7С1, 8С1 и 6D10 профилактически снижать поражение органов *P. aeruginosa* в мышинной модели острой пневмонии.

15 **[0028]** На ФИГ. 9 показана способность лидерных оптимизированных антител 7В1, 7С1 и 8С1 профилактически повышать выживаемость в модели внутрибрюшинной инфекции у мышей по сравнению с исходными 13-42 mAb.

[0029] На ФИГ. 10 показана способность оптимизированных по свинцу антител 7В1, 7С1 и 8С1 профилактически повышать выживаемость в модели острой
20 пневмонии у мышей с иммунодефицитом по сравнению с исходными 13-42 mAb.

[0030] На ФИГ. 11А и 11В показана способность лидерных оптимизированных антител 7В1, 7С1, 8С1 и 6D10 терапевтически улучшать выживаемость в мышинной модели острой пневмонии по сравнению с эталонным антителом V2L2-MD.

[0031] ФИГ. 12А и 12В демонстрируют способность лидерных оптимизированных
25 антител 7В1 и 8С1 профилактически улучшать выживаемость в модели внутрибрюшинной инфекции у мышей, отдельно или в комбинации с антибиотиками меропенемом (MEM), тобрамицином (TOB) или ципрофлоксацином (CIP).

[0032] На ФИГ. 13А и 13В показаны фармакокинетические профили у крыс для
30 оптимизированного антитела 7В1, 7С1, 8С1, 6D10 и эталонного антитела V2L2-MD при внутривенном введении в дозах 3 мг/кг и 30 мг/кг соответственно.

[0033] ФИГ. 14А-14D показывают аффинность связывания оптимизированного антитела 7B1 с PcrV дикого типа и PcrV с мутациями в типовых аминокислотных остатках, измеренную с помощью ELISA.

5 ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0034] Настоящая заявка в одном аспекте относится к анти-PcrV антителам. Используя комбинацию селекции фаговых библиотек scFv, созревания аффинности и надлежащим образом разработанных биохимических и биологических анализов, авторы настоящего изобретения идентифицировали эффективные молекулы антител, которые связываются с PcrV, ингибируют действие лизиса эритроцитов и клеток A549 и обеспечивают как терапевтическую, так и профилактическую защиту *in vivo* от *Pseudomonas aeruginosa*. Представленные в настоящем документе результаты указывают на то, что данные антитела связывают другую область или эпитоп PcrV по сравнению с любым из известных анти-PcrV антител Mab166 или V2L2-MD, и неожиданно они даже более эффективны, чем известные анти-PcrV антитела, как показано в различных биологических анализах.

[0035] Анти-PcrV антитела, представленные в настоящей заявке, включают, например, полноразмерные анти-PcrV антитела, анти-PcrV scFv, анти-PcrV Fc слитые белки, мультиспецифические (такие как биспецифические) анти-PcrV антитела, анти-PcrV иммуноконъюгаты и т.п.

[0036] В одном аспекте в настоящем изобретении предложено выделенное анти-PcrV антитело, которое специфично связывается с эпитопом PcrV *Pseudomonas*, при этом эпитоп содержит одну, две, три, четыре, пять или шесть аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 PcrV *Pseudomonas*.

[0037] Также предложены анти-PcrV антитела, имеющие специфические последовательности, и антитела, которые конкурируют или связываются с тем же эпитопом, что и такие антитела.

[0038] Также предложены нуклеиновые кислоты, кодирующие анти-PcrV антитела, композиции, содержащие анти-PcrV антитела, и способы получения и применения анти-PcrV антител.

Определения

- [0039]** Используемый в контексте данного документа термин «лечение» или «лечить» представляет собой подход для получения благоприятных или желаемых результатов, включая клинические результаты. Для целей настоящей заявки благоприятные или желаемые клинические результаты включают, но не ограничиваются ими, одно или более из следующего: облегчение одного или более симптомов, возникающих в результате заболевания, уменьшение распространенности заболевания, стабилизацию заболевания (например, предотвращение или замедление ухудшения заболевания), предотвращение или отсрочку распространения (например, системного распространения патогена) заболевания, предотвращение или отсрочку рецидива заболевания, отсрочку или замедление прогрессирования заболевания, облегчение болезненного состояния, обеспечение ремиссии (частичной или полной) заболевания, снижение дозы одного или более других препаратов, необходимых для лечения заболевания, отсрочку прогрессирования заболевания, повышение или улучшение качества жизни, увеличение набора массы и/или пролонгирование выживания. Под «лечением» также понимается уменьшение патологических последствий инфекции (таких как, например, лизис или некроз клеток-хозяев). Способы применения предусматривают любой один или более из этих аспектов лечения.
- [0040]** Термин «предотвращать» и подобные слова, такие как «предотвращали», «предотвращающий», «предотвращение» и т. д., указывают на подход к предотвращению, ингибированию или уменьшению вероятности возникновения или рецидива заболевания или состояния, например, патогенной инфекции. Это также относится к отсрочке возникновения или рецидива заболевания или состояния или к отсрочке возникновения или рецидива симптомов заболевания или состояния. Используемый в контексте данного документа термин «предотвращение» и подобные слова также включают снижение интенсивности, эффекта, симптомов и/или тяжести заболевания или состояния до возникновения или рецидива заболевания или состояния. Используемый в контексте данного документа термин «предотвращение» и подобные слова также включают снижение риска и восприимчивости к возникновению или рецидиву заболевания или состояния, *например*, патогенной инфекции.

[0041] Термин «антитело» включает полноразмерные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты. Полноразмерное антитело содержит две тяжелые цепи и две легкие цепи. Варибельные области легкой и тяжелой цепей отвечают за связывание антигена. Варибельные области в обеих цепях обычно содержат три высоковарибельные петли, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR) (CDR легкой цепи (LC), включая LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3, CDR тяжелой цепи (HC), включая HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3). Границы CDR для антител и антигенсвязывающих фрагментов, описанных в настоящем документе, могут быть определены или идентифицированы в соответствии с конвенциями Кэбота, Чотиа или Аль-Лазикани (Аль-Лазикани 1997; Чотиа 1985; Чотиа 1987; Чотиа 1989; Кэбот 1987; Кэбот 1991). Три CDR тяжелой или легкой цепи расположены между фланкирующими участками, известными как каркасные области (FR), которые являются более консервативными, чем CDR, и образуют каркас для поддержки гиперварибельных петель. Константные области тяжелой и легкой цепей не участвуют в связывании антигена, но выполняют различные эффекторные функции. Антитела относятся к классам на основании аминокислотной последовательности константной области их тяжелой цепи. Пять основных классов или изотипов антител представляют собой IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, которые характеризуются наличием тяжелых цепей α , δ , ϵ , γ и μ соответственно. Некоторые основные классы антител делятся на подклассы, такие как IgG1 (тяжелая цепь γ_1), IgG2 (тяжелая цепь γ_2), IgG3 (тяжелая цепь γ_3), IgG4 (тяжелая цепь γ_4), IgA1 (тяжелая цепь α_1) или IgA2 (тяжелая цепь α_2).

[0042] Термин «антигенсвязывающий фрагмент», используемый в контексте данного документа, относится к фрагменту антитела, включающему, например, диатело, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv-фрагмент, стабилизированный дисульфидом Fv-фрагмент (dsFv), (dsFv)₂, биспецифический dsFv (dsFv-dsFv'), стабилизированное дисульфидом диатело (ds диатело), одноцепочечный Fv (scFv), димер scFv (бивалентное диатело), мультиспецифическое антитело, образованное из части антитела, содержащей одну или более CDR, верблюжье однодоменное антитело, нанотело, доменное антитело, бивалентное доменное антитело или любой другой фрагмент антитела, который связывается с антигеном, но не содержит полной структуры антитела. Антигенсвязывающий фрагмент

способен связываться с тем же антигеном, с которым связывается исходное антитело или фрагмент исходного антитела (*например*, исходный scFv). В некоторых вариантах реализации антигенсвязывающий фрагмент может содержать одну или более CDR конкретного человеческого антитела, привитых к каркасной области одного или более разных человеческих антител.

[0043] Термин «эпитоп», используемый в контексте данного документа, относится к конкретной группе атомов или аминокислот на антигене, с которой связывается антитело или часть антитела. Два антитела или фрагменты антител могут связывать один и тот же эпитоп внутри антигена, если они демонстрируют конкурентное связывание с антигеном.

[0044] В контексте данного документа первое антитело «конкурирует» за связывание с целевым PcrV со вторым антителом, когда первое антитело ингибирует связывание целевого PcrV со вторым антителом по меньшей мере примерно на 50% (*например*, по меньшей мере примерно на любой из 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) в присутствии эквимольной концентрации первого антитела или наоборот. Высокопроизводительный процесс «сортировки» антител на основе их перекрестной конкуренции описан в публикации PCT № WO 03/48731.

[0045] Используемый в контексте данного документа термин «специфически связывает», «специфически распознает» или «специфичный для» относится к измеримым и воспроизводимым взаимодействиям, таким как связывание между мишенью и антителом, которое определяет наличие мишени в присутствии гетерогенной популяции молекул, включая биологические молекулы. *Например*, антитело, которое специфически распознает мишень (которая может быть эпитопом), представляет собой антитело, которое связывает эту мишень с большей аффинностью, авидностью, более легко и/или с большей продолжительностью, чем его связывание с другими мишенями. В некоторых вариантах реализации антитело, которое специфически распознает антиген, реагирует с одной или более антигенными детерминантами антигена с аффинностью связывания, которая по меньшей мере примерно в 10 раз превышает его аффинность связывания с другими мишенями.

[0046] «Выделенное» анти-PcrV антитело, используемое в контексте данного документа, относится к анти-PcrV антителу, которое (1) не связано с белками,

встречающимися в природе, (2) не содержит других белков из того же источника, (3) экспрессируется клеткой другого вида или (4) не встречается в природе.

5 **[0047]** Термин «выделенная нуклеиновая кислота», используемый в данном документе, означает нуклеиновую кислоту геномного, кДНК или синтетического происхождения или некоторую их комбинацию, причем в силу своего происхождения «выделенная нуклеиновая кислота» (1) не является связанной со всем или частью полинуклеотида, в котором «выделенная нуклеиновая кислота» встречается в природе, (2) функционально связана с полинуклеотидом, с которым она не связан в природе, или (3) не встречается в природе как часть большей
10 последовательности.

[0048] В контексте данного документа термин «CDR» или «область, определяющая комплементарность», предназначен для обозначения несмежных антигенсвязывающих сайтов, обнаруженных в вариабельной области как тяжелой, так и легкой цепи полипептидов. Эти конкретные области были описаны Kabat *et al.*, *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616 (1977); Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological interest" (1991); Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987); Al-Lazikani B. *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 273: 927-948 (1997); MacCallum *et al.*, *J. Mol. Biol.* 262:732-745 (1996); Abhinandan and Martin, *Mol. Immunol.*, 45: 3832-3839 (2008); Lefranc M.P. *et al.*, *Dev. Comp. Immunol.*, 27: 55-77
15 (2003); и Honegger and Plückthun, *J. Mol. Biol.*, 309:657-670 (2001), где определения включают перекрывающиеся или подгруппы аминокислотных остатков при сравнении друг с другом. Тем не менее, предполагается, что применение любого определения для обозначения CDR антитела или привитых антител или их вариантов находится в пределах объема термина, как определено и использовано
20 в настоящем документе. Аминокислотные остатки, которые охватывают CDR, как определено в каждой из приведенных выше ссылок, представлены ниже в Таблице 1 в качестве сравнения. Алгоритмы и интерфейсы прогнозирования CDR известны в данной области техники, включая, например, Abhinandan and Martin, *Mol. Immunol.*, 45: 3832-3839 (2008); Ehrenmann F. *et al.*, *Nucleic Acids Res.*, 38: D301-D307 (2010); и Adolf-Bryfogle J. *et al.*, *Nucleic Acids Res.*, 43: D432-D438 (2015).
25 Содержание ссылок, цитируемых в этом абзаце, полностью включено в настоящий документ посредством ссылки для использования в настоящей заявке и для возможного включения в один или более пунктов формулы изобретения.
30

ТАБЛИЦА 1: ОПРЕДЕЛЕНИЯ CDR

| | Кэбот ¹ | Чотиа ² | МакКаллум ³ | IMGT ⁴ | АНо ⁵ |
|---------------------|--------------------|--------------------|------------------------|-------------------|------------------|
| V _H CDR1 | 31-35 | 26-32 | 30-35 | 27-38 | 25-40 |
| V _H CDR2 | 50-65 | 53-55 | 47-58 | 56-65 | 58-77 |
| V _H CDR3 | 95-102 | 96-101 | 93-101 | 105-117 | 109-137 |
| V _L CDR1 | 24-34 | 26-32 | 30-36 | 27-38 | 25-40 |
| V _L CDR2 | 50-56 | 50-52 | 46-55 | 56-65 | 58-77 |
| V _L CDR3 | 89-97 | 91-96 | 89-96 | 105-117 | 109-137 |

¹Пронумерованные остатки следуют номенклатуре согласно Кэбот *et al.*, *supra*

²Пронумерованные остатки следуют номенклатуре согласно Чотиа *et al.*, *supra*

³Пронумерованные остатки следуют номенклатуре согласно МакКаллум *et al.*, *supra*

⁴Пронумерованные остатки следуют номенклатуре согласно Lefranc *et al.*, *supra*

⁵Пронумерованные остатки следуют номенклатуре согласно Honegger and Plückthun, *supra*

5

[0049] Термин «химерные антитела» относится к антителам, в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от определенного вида или принадлежащих к определенному классу или подклассу антител, в то время как оставшаяся часть цепи (цепей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагментам таких антител, если они проявляют биологическую активность согласно настоящей заявке (см. патент США № 4816567 и Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)).

[0050] «Fv» представляет собой минимальный фрагмент антитела, который содержит полный сайт распознавания и связывания антигена. Этот фрагмент состоит из димера одного домена варибельной области тяжелой и легкой цепи в тесной нековалентной ассоциации. В результате укладки этих двух доменов образуются шесть гиперварибельных петель (по 3 петли из тяжелой и легкой цепи), которые вносят аминокислотные остатки для связывания антигена и придают антителу специфичность связывания антигена. Однако даже один варибельный домен (или половина Fv, содержащая только три CDR,

25

специфичных для антигена) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и с более низкой аффинностью, чем весь сайт связывания.

[0051] «Одноцепочечные Fv», также сокращенно обозначаемые как «sFv» или «scFv», представляют собой фрагменты антител, которые содержат домены антител V_H и V_L , соединенные в одну полипептидную цепь. В некоторых вариантах реализации полипептид scFv дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами V_H и V_L , который позволяет scFv образовывать желаемую структуру для связывания антигена. Обзор scFv см. в Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

[0052] Термин «диатела» относится к небольшим фрагментам антител, полученным путем конструирования фрагментов scFv (см. предыдущий абзац), как правило, с короткими линкерами (например, от примерно 5 до примерно 10 остатков) между доменами V_H и V_L , так что достигается межцепочечное, но внутрицепочечное спаривание доменов V , что приводит к бивалентному фрагменту, т.е. фрагменту, имеющему два сайта связывания антигена. Биспецифические диатела представляют собой гетеродимеры двух «кроссоверных» фрагментов scFv, в которых домены V_H и V_L двух антител присутствуют на разных полипептидных цепях. Диатела более полно описаны, например, в EP 404097; WO 93/11161; и Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993).

[0053] «Гуманизированные» формы нечеловеческих антител (например, грызунов) представляют собой химерные антитела, которые содержат минимальную последовательность, полученную из нечеловеческого антитела. По большей части гуманизированные антитела представляют собой человеческие иммуноглобулины (реципиентное антитело), в которых остатки из гипервариабельной области (HVR) реципиента заменены остатками из гипервариабельной области нечеловеческого вида (донорное антитело), такого как мышье, крысиное, кроличье или примата, не являющегося человеком, обладающего желаемой специфичностью, аффинностью и способностью. В некоторых случаях остатки каркасной области (FR) иммуноглобулина человека заменены соответствующими остатками нечеловеческого происхождения. Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, которых нет в

реципиентном антителе или в донорном антителе. Эти модификации вносятся для дальнейшего улучшения характеристик антител. Как правило, гуманизованное антитело будет содержать по существу все из по меньшей мере одного, а обычно два переменных домена, в которых все или по существу все гиперпеременные петли соответствуют петлям нечеловеческого иммуноглобулина, и все или по существу все FR являются последовательности человеческого иммуноглобулина. Гуманизованное антитело необязательно также будет содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, иммуноглобулина человека. Дополнительные подробности см. в Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329 (1988); и Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992).

[0054] «Процент (%) идентичности аминокислотной последовательности» или «гомология» по отношению к последовательностям полипептида и антитела, идентифицированным в настоящем документе, определяется как процентная доля аминокислотных остатков в последовательности-кандидате, которые идентичны аминокислотным остаткам в сравниваемом полипептиде, после выравнивания последовательностей с учетом любых консервативных замен как части идентичности последовательности. Выравнивание с целью определения процентной идентичности аминокислотной последовательности может быть достигнуто различными способами, известными специалистам в данной области, например, с применением общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN, Megalign (DNASTAR) или MUSCLE. Специалисты в данной области техники могут определить подходящие параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. Однако для целей настоящего документа значения % идентичности аминокислотной последовательности получают с использованием компьютерной программы сравнения последовательностей MUSCLE (Edgar, R.C., *Nucleic Acids Research* 32(5):1792-1797, 2004; Edgar, R.C., *BMC Bioinformatics* 5(1):113, 2004).

[0055] Термины «Fc-рецептор» или «FcR» используются для описания рецептора, который связывается с Fc-областью антитела. В некоторых вариантах реализации FcR согласно настоящей заявке представляет собой тот, который

связывает антитело IgG (γ -рецептор) и включает рецепторы подклассов Fc γ RI, Fc γ RII и Fc γ RIII, включая аллельные варианты и формы альтернативного сплайсинга этих рецепторов. Рецепторы Fc γ RII включают Fc γ RIIA («активирующий рецептор») и Fc γ RIIB («ингибирующий рецептор»), которые имеют сходные аминокислотные последовательности, отличающиеся, прежде всего, своими цитоплазматическими доменами. Активирующий рецептор Fc γ RIIA содержит мотив активации иммунорецептора на основе тирозина (ITAM) в своем цитоплазматическом домене. Ингибирующий рецептор Fc γ RIIB содержит мотив ингибирования иммунорецептора на основе тирозина (ITIM) в своем цитоплазматическом домене (см. обзор Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997)). Термин включает аллотипы, такие как аллотипы Fc γ RIIA: Fc γ RIIA-Phe158, Fc γ RIIA-Val158, Fc γ RIIA-R131 и/или Fc γ RIIA-H131. FcR рассмотрены в Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991); Capel *et al.*, *Immunomethods* 4:25-34 (1994); и de Haas *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995). Другие FcR, в том числе те, которые будут идентифицированы в будущем, охватываются в настоящем документе термином «FcR». Этот термин также включает неонатальный рецептор FcRn, который отвечает за перенос материнских IgG к плоду (Guyer *et al.*, *J. Immunol.* 117:587 (1976) и Kim *et al.*, *J. Immunol.* 24:249 (1994)).

[0056] Термин «FcRn» относится к неонатальному рецептору Fc (FcRn). FcRn структурно подобен главному комплексу гистосовместимости (MHC) и состоит из α -цепи, нековалентно связанной с β 2-микроглобулином. Многочисленные функции неонатального Fc-рецептора FcRn рассмотрены в Ghetie and Ward (2000) *Annu. Rev. Immunol.* 18, 739-766. FcRn играет роль в пассивной доставке иммуноглобулинов IgG от матери к плоду и регуляции уровней IgG в сыворотке. FcRn может действовать как рецептор реутилизации, связывая и транспортируя пиноцитированные IgG в интактной форме как внутри, так и между клетками, и спасая их от пути деградации по умолчанию.

[0057] «Домен CH1» Fc-области IgG человека обычно располагается примерно от аминокислоты 118 до аминокислоты примерно 215 (система нумерации EU).

[0058] «Шарнирная область» обычно определяется как расположенная от Glu216 до Pro230 в IgG1 человека (Burton, *Molec. Immunol.* 22:161-206 (1985)). Шарнирные области других изотипов IgG можно выровнять с последовательностью IgG1,

поместив первый и последний остатки цистеина, образующие связи S-S между тяжелыми цепями, в одних и тех же положениях.

[0059] «Домен CH₂» Fc-области IgG человека обычно располагается примерно от аминокислоты 231 до примерно аминокислоты 340. Домен CH₂ уникален тем, что он не связан тесно с другим доменом. Скорее две N-связанные разветвленные углеводные цепи расположены между двумя доменами CH₂ интактной нативной молекулы IgG. Было высказано предположение, что углевод может заменить пару домен-домен и помочь стабилизировать домен CH₂. Burton, *Molec Immunol.* 22:161-206 (1985).

[0060] «Домен CH₃» включает участок остатков, C-концевой по отношению к домену CH₂ в Fc-области (т.е. примерно от аминокислотного остатка 341 до C-концевого конца последовательности антитела, обычно на аминокислотном остатке 446 или 447 IgG).

[0061] «Функциональный Fc-фрагмент» обладает «эффекторной функцией» Fc-области нативной последовательности. Примеры «эффекторных функций» включают связывание C1q; комплементзависимая цитотоксичность (CDC); связывание рецептора Fc; антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз; подавляющая регуляция рецепторов клеточной поверхности (например, рецептора В-клеток; BCR) и т. д. Такие эффекторные функции обычно требуют объединения Fc-области со связывающим доменом (например, вариабельным доменом антитела) и могут быть оценены с использованием различных анализов, известных в данной области техники.

[0062] Антитело с вариантом IgG Fc с «измененной» аффинностью связывания FcR или активностью ADCC представляет собой антитело, которое обладает повышенной или пониженной активностью связывания FcR (например, FcγR или FcRn) и/или активностью ADCC по сравнению с исходным полипептидом или полипептидом, содержащим нативную последовательность Fc-области. Вариант Fc, который «демонстрирует повышенное связывание» с FcR, связывает по меньшей мере один FcR с более высокой аффинностью (например, более низким наблюдаемым значением K_d или IC₅₀), чем исходный полипептид или Fc IgG с нативной последовательностью. В соответствии с некоторыми вариантами реализации улучшение связывания по сравнению с исходным полипептидом представляет собой улучшение связывания примерно в 3 раза, например,

примерно в 5, 10, 25, 50, 60, 100, 150, 200 или до 500 раз, или примерно от 25% до 1000%. Вариант полипептида, который «демонстрирует пониженное связывание» с FcR, связывает по меньшей мере один FcR с более низкой аффинностью (например, с более высоким наблюдаемым значением K_d или более высоким значением IC_{50}), чем исходный полипептид. Снижение связывания по сравнению с исходным полипептидом может составлять снижение связывания примерно на 40% или более.

[0063] «Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность» или «ADCC» относится к форме цитотоксичности, при которой секретируемый Ig связывается с Fc-рецепторами (FcR), присутствующими на определенных цитотоксических клетках (например, клетках естественных киллеров (NK), нейтрофилах, и макрофагах) позволяя этим цитотоксическим эффекторным клеткам специфически связываться с несущей антиген клеткой-мишенью и впоследствии уничтожать клетку-мишень цитотоксинами. Антитела «вооружают» цитотоксические клетки и необходимы для такого уничтожения. Первичные клетки для опосредования ADCC, NK-клетки, экспрессируют только FcγRIII, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIII. Экспрессия FcR на гемопозитических клетках обобщена в таблице 3 на странице 464 Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991). Для оценки ADCC активности представляющей интерес молекулы можно провести анализ ADCC *in vitro*, такой как описанный в патенте США № 5500362 или 5821337. Полезные эффекторные клетки для таких анализов включают мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) и клетки-естественные киллеры (NK). Альтернативно или дополнительно ADCC активность представляющей интерес молекулы может быть оценена *in vivo*, например, на животной модели, такой как модель, описанная Clynes *et al. PNAS (USA)* 95:652-656 (1998).

[0064] Полипептид, содержащий вариант области Fc, который «проявляет повышенную ADCC» или опосредует ADCC в присутствии эффекторных клеток человека более эффективно, чем полипептид, содержащий Fc IgG дикого типа, или исходный полипептид, представляет собой полипептид, который *in vitro* или *in vivo* существенно более эффективен в опосредовании ADCC, когда количества полипептида с вариантом области Fc и полипептида с областью Fc дикого типа (или исходного полипептида) в анализе по существу одинаковы. Как правило,

такие варианты будут идентифицированы с использованием любого анализа ADCC *in vitro*, известного в данной области техники, такого как анализы или способы определения активности ADCC, *например*, на животной модели и т. д. В некоторых вариантах реализации вариант представляет собой от примерно 5 раз до примерно 100 раз, *например*, от примерно 25 до примерно 50 раз, более эффективен в опосредовании ADCC, чем Fc дикого типа (или исходный полипептид).

[0065] «Комплементзависимая цитотоксичность» или «CDC» относится к лизису клетки-мишени в присутствии комплемента. Активация классического пути комплемента инициируется связыванием первого компонента системы комплемента (C1q) с антителами (соответствующего подкласса), которые связаны с родственным им антигеном. Чтобы оценить активацию комплемента, можно осуществлять анализ CDC, *например*, как описано в Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996). Варианты полипептидов с измененными аминокислотными последовательностями Fc области и повышенной или пониженной способностью связывания C1q описаны в патенте США № 6194551B1 и WO 99/51642. Содержание этих патентных публикаций специально включено в настоящее описание посредством ссылки. См. также Idusogie *et al. J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000).

[0066] Если не указано иное, «нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность» включает все нуклеотидные последовательности, которые являются вырожденными версиями друг друга и которые кодируют одну и ту же аминокислотную последовательность. Нуклеотидная последовательность фразы, которая кодирует белок или РНК, может также включать интроны в той мере, в какой нуклеотидная последовательность, кодирующая белок, может в некоторых вариантах содержать интрон(ы).

[0067] Термин «функционально связанный» относится к функциональной связи между регуляторной последовательностью и гетерологичной последовательностью нуклеиновой кислоты, приводящей к экспрессии последней. *Например*, первая последовательность нуклеиновой кислоты функционально связана со второй последовательностью нуклеиновой кислоты, когда первая последовательность нуклеиновой кислоты находится в функциональной

взаимосвязи со второй последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, промотор функционально связан с кодирующей последовательностью, если промотор влияет на транскрипцию или экспрессию кодирующей последовательности. Как правило, функционально связанные последовательности ДНК являются непрерывными и, если необходимо, для соединения двух областей, кодирующих белок, в одной и той же рамке считывания.

[0068] «Гомологичный» относится к сходству последовательностей или идентичности последовательностей между двумя полипептидами или между двумя молекулами нуклеиновой кислоты. Когда положение в обеих из двух сравниваемых последовательностей занято одной и той же субъединицей основания или мономера аминокислоты, например, если положение в каждой из двух молекул ДНК занято аденином, то молекулы гомологичны в этом положении. Процент гомологии между двумя последовательностями является функцией количества совпадающих или гомологичных положений, общих для двух последовательностей, деленного на количество сравниваемых положений, умноженное на 100. Например, если 6 из 10 положений в двух последовательностях совпадают или гомологичны, тогда две последовательности гомологичны на 60%. Например, последовательности ДНК ATTGCC и TATGGC имеют гомологию на 50%. Как правило, сравнение проводят, когда две последовательности выровнены для получения максимальной гомологии.

[0069] «Эффективное количество» анти-PcrV-антитела или композиции, как раскрыто в настоящем документе, представляет собой количество, достаточное для достижения конкретно заявленной цели. «Эффективное количество» может быть определено эмпирически и известными способами, относящимися к заявленной цели.

[0070] Термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству анти-PcrV-антитела или композиции, как раскрыто в настоящем документе, эффективному для «лечения» заболевания или расстройства у индивидуума. В случае инфекции *P. aeruginosa* терапевтически эффективное количество анти-PcrV-антитела или композиции, как раскрыто в настоящем документе, может уменьшить количество инфицированных клеток; ингибировать (т.е. до некоторой степени замедлять и предпочтительно останавливать) распространение инфекции; и/или облегчить до некоторой степени один или более

симптомов, связанных с инфекцией. В той мере, в какой анти-PcrV антитело или композиция, описанные в настоящем документе, могут предотвращать рост *P. aeruginosa* и/или уничтожать *P. aeruginosa* при инфекции, анти-PcrV может быть цитостатическим и/или цитотоксическим. В некоторых вариантах реализации терапевтически эффективным количеством является количество, подавляющее инфекцию у пациента. В некоторых вариантах реализации терапевтически эффективным количеством является количество, полностью уничтожающее инфекцию у пациента.

[0071] Используемый в настоящей заявке термин «фармацевтически приемлемый» или «фармакологически совместимый» означает материал, который не является биологически или иным образом нежелательным, *например*, материал может быть включен в фармацевтическую композицию, вводимую пациенту, не вызывая каких-либо значительных нежелательных биологических эффектов или не взаимодействуя вредным образом с любым из других компонентов композиции, в которой он содержится. Фармацевтически приемлемые носители или вспомогательные веществ предпочтительно соответствуют требуемым стандартам токсикологических и производственных испытаний и/или включены в Руководство по неактивным ингредиентам, подготовленное Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США.

[0072] Понятно, что варианты реализации настоящей заявки, описанные в настоящем документе, включают варианты реализации, «состоящие» и/или «по существу состоящие из».

[0073] Ссылка на «примерно» в отношении значения или параметра в настоящем документе включает (и описывает) варианты, которые направлены на это значение или параметр как таковой. Например, описание, относящееся к «примерно X», включает в себя описание «X».

[0074] Используемый в контексте данного документа термин «не» в отношении значения или параметра обычно означает и описывает «отличное от» указанного значения или параметр. Например, способ не применяют для лечения инфекции типа X, что означает, что способ применяют для лечения инфекций других типов, кроме X.

[0075] Используемые в настоящем документе и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают ссылки во множественном числе, если из контекста явно не следует иное.

5 **Анти-PcrV антитела**

[0076] В одном аспекте в настоящей заявке предложены анти-PcrV антитела, которые специфически связываются с PcrV. Анти-PcrV антитела включают, но не ограничиваются ими, гуманизированные антитела, химерные антитела, мышинные антитела, человеческие антитела и антитела, содержащие CDR тяжелой цепи и/или легкой цепи, обсуждаемые в настоящем документе. В одном аспекте в настоящей заявке предложены выделенные антитела, которые связываются с PcrV. Предполагаемые анти-PcrV антитела включают, например, полноразмерные анти-PcrV антитела (*например*, полноразмерные IgG1, IgG2 или IgG4), анти-PcrV scFv, мульти- специфические (такие как биспецифические) анти-PcrV антитела, анти-PcrV иммуноконъюгаты и т.п. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело представляет собой Fab, Fab', F(ab)'₂, Fab'-SH, одноцепочечный Fv (scFv), Fv-фрагмент, dAb, Fd, или диатело. В некоторых вариантах реализации ссылка на антитело, которое специфически связывается с PcrV, означает, что антитело связывается с PcrV с аффинностью по меньшей мере примерно в 10 раз (включая, например, по меньшей мере примерно любую из 10, 10², 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶ или 10⁷) или в 10⁷ раз) его сродство к объекту, не являющемуся мишенью. В некоторых вариантах реализации объектом, не являющимся мишенью, является антиген, не являющийся PcrV. Аффинность связывания можно определить способами, известными в данной области техники, такими как ELISA, анализ сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) или анализ радиоиммунопреципитации (RIA). K_d можно определить способами, известными в данной области техники, такими как анализ поверхностного плазмонного резонанса (SPR) или интерферометрия биослоев (BLI).

[0077] В некоторых аспектах анти-PcrV антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с PcrV *Pseudomonas*, (a) способствует, опосредует или усиливает опсонофагоцитарное уничтожение (ОПК) *P. aeruginosa*, и/или (b) разрушает активность системы секреции токсинов III типа.

[0078] Хотя анти-PcrV антитела, содержащие человеческие последовательности (например, последовательности переменных доменов тяжелой и легкой цепей человека, содержащие последовательности CDR человека), широко обсуждаются в настоящем документе, также рассматриваются нечеловеческие анти-PcrV антитела. В некоторых вариантах реализации нечеловеческие анти-PcrV антитела содержат последовательности CDR человека из анти-PcrV антитела, как описано в настоящем документе, и нечеловеческие каркасные последовательности. Нечеловеческие каркасные последовательности включают, в некоторых вариантах реализации, любую последовательность, которую можно использовать для создания синтетических переменных доменов тяжелой и/или легкой цепи с использованием одной или более последовательностей CDR человека, как описано в настоящем документе, включая, например, млекопитающих, например, мышь, крысу, кролика, свинью, крупный рогатый скот (например, корову, быка, буйвола), оленя, овцу, козу, курицу, кошку, собаку, хорька, примата (например, мартышку, макака-резус) и т.д. В некоторых вариантах реализации нечеловеческое анти-PcrV антитело включает анти-PcrV антитело, полученное прививкой одной или более последовательностей CDR человека, как описано в настоящем документе, на нечеловеческую каркасную последовательность (например, на мышиную или куриную каркасную последовательность).

[0079] Полная аминокислотная последовательность иллюстративного белка PcrV включает или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело, описанное в настоящем документе, специфически распознает эпитоп PcrV *Pseudomonas*. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело специфично для PcrV *Pseudomonas* и не проявляет перекрестной реактивности между видами или другими типами перекрестной реактивности белков, отличных от *Pseudomonas*.

[0080] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело, описанное в настоящем документе, специфически связывается с линейным эпитопом PcrV *Pseudomonas*. В некоторых вариантах реализации описанное в настоящем документе анти-PcrV антитело специфически связывается с нелинейным эпитопом PcrV *Pseudomonas*. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело, описанное в настоящем документе, специфически связывается с эпитопом PcrV *Pseudomonas*, где эпитоп содержит по меньшей мере любое из 1, 2, 3, 4, 5 или 6

аминокислотных остатков, выбранных из группы Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 PcrV *Pseudomonas* согласно SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело, описанное в настоящем документе, специфически связывается с эпитопом PcrV *Pseudomonas*, где эпитоп содержит по меньшей мере 2 аминокислотных остатка, выбранных из группы Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 PcrV *Pseudomonas* согласно SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело, описанное в настоящем документе, специфически связывается с эпитопом PcrV *Pseudomonas*, где эпитоп содержит по меньшей мере 3 аминокислотных остатка, выбранных из группы Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 PcrV *Pseudomonas* согласно SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело, описанное в настоящем документе, специфически связывается с эпитопом PcrV *Pseudomonas*, где эпитоп содержит по меньшей мере 4 аминокислотных остатка, выбранных из группы Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 PcrV *Pseudomonas* согласно SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело, описанное в настоящем документе, специфически связывается с эпитопом PcrV *Pseudomonas*, где эпитоп содержит по меньшей мере 5 аминокислотных остатков, выбранных из группы Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 PcrV *Pseudomonas* согласно SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело, описанное в настоящем документе, специфически связывается с эпитопом PcrV *Pseudomonas*, где эпитоп содержит Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 PcrV *Pseudomonas* согласно SEQ ID NO: 71.

[0081] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константную область тяжелой цепи антитела и константную область легкой цепи антитела. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG2. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG3. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG4. В некоторых вариантах реализации IgG представляет собой человеческий IgG. В некоторых вариантах реализации константная область тяжелой цепи содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 73. В некоторых вариантах

реализации константная область тяжелой цепи содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 74. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV содержит константную область легкой лямбда-цепи. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константную область легкой каппа-цепи. В некоторых вариантах реализации константная область легкой цепи содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит переменный домен тяжелой цепи антитела и переменный домен легкой цепи антитела.

10 **[0082]** В одном аспекте в настоящей заявке предложено выделенное анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело содержит переменный домен тяжелой цепи (V_H), содержащий: определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1, содержащую $X_1X_2X_3MS$ (SEQ ID NO: 39), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой D или S, X_2 представляет собой Y или N и X_3 представляет собой P, H, Y или S; HC-CDR2, содержащую $X_1ISESGGSTX_2X_3ADSVKG$ (SEQ ID NO: 40), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой G или V; X_2 представляет собой N или Y; и X_3 представляет собой D или Y; и HC-CDR3, содержащую $GRFX_1X_2X_3X_4X_5X_6FX_7RAVYGMDV$ (SEQ ID NO: 41), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой S или C, X_2 представляет собой T, G, D, Y, Q или A, X_3 представляет собой S, D, N, E, L, A, или Y, X_4 представляет собой S, T, Y или A, X_5 представляет собой S, H, Q, A, R, K, G, E, Y или D, X_6 представляет собой H или C, и X_7 представляет собой F или Y; и переменный домен легкой цепи (V_L), содержащий: определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1, содержащую $RASQGIX_1SYLA$ (SEQ ID NO: 42), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой S или R; LC-CDR2, содержащую $AASTLQS$ (SEQ ID NO: 34), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; и LC-CDR3, содержащую $QQLX_1SYPLX_2$ (SEQ ID NO: 43), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой S, N или K, и X_2 представляет собой S или T.

[0083] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность любой

из SEQ ID NO: 1-8, или ее вариант, содержащий не более 3 (например, любое количество из 1, 2 или 3) аминокислотных остатков, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 9-14, или ее вариант, содержащий не более 3 (например, любое количество из 1, 2 или 3) аминокислотных остатков, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 15-31, или ее вариант, содержащий не более 3 (например, любое количество из 1, 2 или 3) аминокислотных остатков; и V_L , содержащий: LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 или 33, или ее вариант, содержащий не более 3 (например, любое количество из 1, 2 или 3) аминокислотных остатков, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, или ее вариант, содержащий не более 3 (например, любое количество из 1, 2 или 3) аминокислотных остатков, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 35-38, или ее вариант, содержащий не более 3 (например, любое количество из 1, 2 или 3) аминокислотных остатков.

[0084] В некоторых вариантах реализации анти-PcгV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-8, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 9-14, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 15-31; и V_L содержащий: LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 или 33 LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 35-38.

[0085] В некоторых вариантах реализации анти-PcгV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 из V_H , содержащего аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 48-64; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 из V_L , содержащего аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-70.

[0086] В некоторых вариантах реализации анти-PcгV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 48-64, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности

последовательности, и V_L содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-70, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 48-64, и V_L содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-70.

[0087] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV представляет собой полноразмерное антитело. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константные домены IgG1. В некоторых вариантах реализации IgG1 представляет собой человеческий IgG1. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константные домены IgG4. В некоторых вариантах реализации IgG4 представляет собой человеческий IgG4. В некоторых вариантах реализации константная область тяжелой цепи анти-PcrV содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 73. В некоторых вариантах реализации константная область тяжелой цепи анти-PcrV содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 74. В некоторых вариантах реализации константная область легкой цепи анти-PcrV содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72.

[0088] В некоторых вариантах реализации предложено выделенное анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело содержит переменный домен тяжелой цепи (V_H), содержащий: определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1, содержащую DX_1X_2MS (SEQ ID NO: 44), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой N или Y и X_2 представляет собой P, H, или Y; HC-CDR2, содержащую $X_1ISESGGSTNYADSVKG$ (SEQ ID NO: 45), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой G или V; и HC-CDR3, содержащую $GRFSTX_1SX_2HFX_3RAVYGMDV$ (SEQ ID NO: 46), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X_1 представляет собой N, S, D или L, X_2 представляет собой S или A, и X_3 представляет собой F или Y; и переменный домен легкой цепи (V_L), содержащий: определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1, содержащую $RASQGISSYLA$ (SEQ ID NO: 32), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; LC-CDR2, содержащую $AASTLQS$ (SEQ ID NO:

34), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; и LC-CDR3, содержащую QQLSSYPLX₁ (SEQ ID NO: 47), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X₁ представляет собой S или T.

5 **[0089]** В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H, содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H по SEQ ID NO: 51, и V_L, содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L по SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H, содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H по SEQ ID NO: 52, и V_L, содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L по SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H, содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H по SEQ ID NO: 61, и V_L, содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L по SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H, содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H по SEQ ID NO: 62, и V_L, содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L по SEQ ID NO: 67.

[0090] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H, содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L, содержащий: LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[0091] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H, содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; и V_L содержащий: LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации

предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; и V_L , содержащий: LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; и V_L , содержащий: LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[0092] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[0093] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID

NO: 16, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[0094] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[0095] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из

91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[0096] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[0097] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36.

[0098] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66.

[0099] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00100] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

[00101] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV

антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67.

[00102] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00103] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же

эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00104] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00105] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00106] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:

11, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00107] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00108] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00109] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00110] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00111] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00112] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации

предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

[00113] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67.

[00114] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID

NO: 23, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00115] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

[00116] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из

91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67.

[00117] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00118] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00119] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68.

[00120] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00121] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

[00122] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV

антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69.

[00123] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00124] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же

эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00125] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00126] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00127] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID

NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00128] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 60; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00129] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00130] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; и V_L , содержащий LC-CDR1,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

5 **[00131]** В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

15 **[00132]** В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

25 **[00133]** В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

[00134] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67.

[00135] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID

NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00136] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00137] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, или ее вариант,

имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00138] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00139] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 31; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

[00140] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67.

[00141] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 38, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

[00142] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое специфически конкурирует с антителом, содержащим V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38. В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее V_H , содержащий: HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38.

[00143] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% (например, по меньшей мере любое из 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) идентичности последовательности, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV

антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 V_H , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 V_L , содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70.

[00144] В некоторых вариантах реализации конкурентные анализы могут быть использованы для идентификации моноклонального антитела, которое конкурирует с анти-PcrV антителом, описанным в настоящем документе, за связывание с PcrV. Конкурентные анализы можно использовать для определения того, связывают ли два антитела один и тот же эпитоп, распознавая идентичные или стерически перекрывающиеся эпитопы, или одно антитело конкурентно ингибирует связывание другого антитела с антигеном. В некоторых вариантах реализации такое конкурирующее антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, описанное в настоящем документе. Примеры конкурентных анализов включают, но не ограничиваются ими, рутинные анализы, такие как анализы, представленные в Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.). Подробные типовые способы картирования эпитопа, с которым связывается антитело, представлены в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, N.J.). В некоторых вариантах реализации два антитела, как говорят, связываются с одним и тем же эпитопом, если каждое из них блокирует связывание другого на 50% или более. В некоторых вариантах реализации антитело, которое конкурирует с описанным в настоящем документе анти-PcrV антителом, представляет собой химерное, гуманизированное или человеческое антитело.

[00145] Примеры последовательностей анти-PcrV антител показаны в Таблицах 2 и 3. Специалисты в данной области техники знают, что известно много алгоритмов для предсказания положений CDR и для разграничения переменных областей тяжелой и легкой цепей антитела. Анти-PcrV антитела, содержащие CDR, последовательности V_H и/или V_L из антител, описанных в настоящем документе, но основанные на алгоритмах предсказания, отличных от приведенных в примерах в таблицах ниже, входят в объем настоящего изобретения.

Таблица 2. Характерные последовательности CDR анти-PcrV антитела.

| Название | CDR H1 | CDR H2 | CDR H3 |
|-----------------|-------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------|
| 13-42 | DYPMS (SEQ ID NO: 1) | GISESGGSTNDADSVKG (SEQ ID NO: 9) | GRFCTNSSCFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 15) |
| 2B1 | SYPMS (SEQ ID NO: 2) | GISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 10) | GRFSGESHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 16) |
| 3H10 | DYPMS (SEQ ID NO: 1) | GISESGGSTNDADSVKG (SEQ ID NO: 9) | GRFSDYSQHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 17) |
| 8C1 | DNHMS (SEQ ID NO: 3) | GISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 10) | GRFSTNSAHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 18) |
| 7C1 | DNHMS (SEQ ID NO: 3) | GISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 10) | GRFSTSSSHFYRAVYGMDV (SEQ ID NO: 19) |
| 2D3 | DNHMS (SEQ ID NO: 3) | GISESGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 11) | GRFSYDTRHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 20) |
| 3A9 | DYSMS (SEQ ID NO: 4) | GISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 10) | GRFSDSTKHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 21) |
| 3A11 | SYHMS (SEQ ID NO: 5) | GISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 10) | GRFSQSSSHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 22) |
| 3B12 | SNHMS (SEQ ID NO: 6) | GISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 10) | GRFSDEYGHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 23) |
| 3G3 | DYPMS (SEQ ID NO: 1) | GISESGGSTYDADSVKG (SEQ ID NO: 12) | GRFSASAGHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 24) |
| 4A10 | SYPMS (SEQ ID NO: 2) | GISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 10) | GRFSDASEHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 25) |
| 5B3 | DYPMS (SEQ ID NO: 1) | GISESGGSTNDADSVKG (SEQ ID NO: 9) | GRFSQDSYHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 26) |
| 6A10 | DNHMS (SEQ ID NO: 3) | GISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 10) | GRFSTSSSHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 27) |
| 6D10 | DYPMS (SEQ ID NO: 1) | GISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 10) | GRFSTDSSHFYRAVYGMDV (SEQ ID NO: 28) |
| 7B1 | DNYMS (SEQ ID NO: 7) | VISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 13) | GRFSTLSSHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 29) |
| 7B2 | DYPMS (SEQ ID NO: 1) | GISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 10) | GRFSTDSSHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 30) |
| 9B12 | DNPMS (SEQ ID NO: 8) | VISESGGSTNDADSVKG (SEQ ID NO: 14) | GRFSTNSDHFYRAVYGMDV (SEQ ID NO: 31) |
| 7B1-1F5 | DNYMS (SEQ ID NO: 7) | VISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 13) | GRFSTLSSHFFRAVYGMDV (SEQ ID NO: 29) |
| | | | |
| Название | CDR L1 | CDR L2 | CDR L3 |
| 13-42 | RASQGISSYLA | AASTLQS | QQLSSYPLS |

| | | | |
|---------|--------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| | (SEQ ID NO: 32) | (SEQ ID NO: 34) | (SEQ ID NO: 35) |
| 2B1 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLS (SEQ ID NO: 35) |
| 3H10 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLNSYPLT (SEQ ID NO: 36) |
| 8C1 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLT (SEQ ID NO: 37) |
| 7C1 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLS (SEQ ID NO: 35) |
| 2D3 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLS (SEQ ID NO: 35) |
| 3A9 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLS (SEQ ID NO: 35) |
| 3A11 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLT (SEQ ID NO: 37) |
| 3B12 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLT (SEQ ID NO: 37) |
| 3G3 | RASQGIRSYLA (SEQ ID NO: 33) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLS (SEQ ID NO: 35) |
| 4A10 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLT (SEQ ID NO: 37) |
| 5B3 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLS (SEQ ID NO: 35) |
| 6A10 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLS (SEQ ID NO: 35) |
| 6D10 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLS (SEQ ID NO: 35) |
| 7B1 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLT (SEQ ID NO: 37) |
| 7B2 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLS (SEQ ID NO: 35) |
| 9B12 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLSSYPLT (SEQ ID NO: 37) |
| 7B1-1F5 | RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32) | AASTLQS (SEQ ID NO: 34) | QQLKSYPLT (SEQ ID NO: 38) |

Таблица 3. Характерные последовательности V_H и V_L .

| SEQ ID NO | Описание | Последовательность |
|-----------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 48 | 13-42 V_H | EVQLLES GGGLVQPGSLRLSCTASGFTFSDYPMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNDADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFCTNSSCFRAVYGM DVWGQGTAVT |

| SEQ ID NO | Описание | Последовательность |
|-----------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | VSS |
| 49 | 2B1 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYPMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNYADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSGESHFFRAVYGMDVWGQGTAVT VSS |
| 50 | 3H10 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSDYPMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNDADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSDYSQHFFRAVYGMDVWGQGTAVT VSS |
| 51 | 8C1 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSDNHMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNYADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSTNSAHFFRAVYGMDVWGQGTAVT VSS |
| 52 | 7C1 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSDNHMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNYADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSTSSSHFYRAVYGMDVWGQGTAVT VSS |
| 53 | 2D3 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSDNHMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTYYADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSYDTRHFFRAVYGMDVWGQGTAVT VSS |
| 54 | 3A9 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSDYSMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNYADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSDSTKHFFRAVYGMDVWGQGTAVT VSS |
| 55 | 3A11 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYHMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNYADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSQSSSHFFRAVYGMDVWGQGTAVT VSS |
| 56 | 3B12 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSNHMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNYADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSDEYGHFFRAVYGMDVWGQGTAVT VSS |
| 57 | 3G3 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSDYPMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTYDADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSASAGHFFRAVYGMDVWGQGTAVT VSS |

| SEQ ID NO | Описание | Последовательность |
|-----------|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 58 | 4A10 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYPMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNYADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSDASEHFFRAVYGM DVWGQGTAVT VSS |
| 59 | 5B3 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSDYPMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNDADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSQDSYHFFRAVYGM DVWGQGTAVT VSS |
| 60 | 6A10 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSDNHMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNYADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSTSSSHFFRAVYGM DVWGQGTAVT VSS |
| 61 | 6D10 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSDYPMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNYADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSTDSSHFYRAVYGM DVWGQGTAVT VSS |
| 62 | 7B1, 7B1-1F5 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSDNYMSWVRQAP GKGLDWVSVISESGGSTNYADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSTLSSHFFRAVYGM DVWGQGTAVT VSS |
| 63 | 7B2 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSDYPMSWVRQAP GKGLDWVSGISESGGSTNYADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSTDSSHFFRAVYGM DVWGQGTAVT VSS |
| 64 | 9B12 V _H | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSDNPMSWVRQAP GKGLDWVSVISESGGSTNDADSVKGRFSTSRDNSKSTLYLDM NSLRAEDTAIYYCAKGRFSTNSDHFYRAVYGM DVWGQGTAVT VSS |
| 65 | 13-42, 2B1, 7C1, 2D3, 3A9, 5B3, 6A10, 6D10, 7B2 V _L | DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKA PKLLIYAAS TLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYY CQQLSSYPLSFGGGTKVEIK |
| 66 | 3H10 V _L | DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKA PKLLIYAAS TLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYY CQQLNSYPLTFGGG TKVEIK |
| 67 | 8C1, 3A11, 3B12, 7B1, 9B12 V _L | DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKA PKLLIYAAS TLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYY CQQLSSYPLTFGGG TKVEIK |

| SEQ ID NO | Описание | Последовательность |
|-----------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 68 | 3G3 V _L | DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRSYLAWYQQKPGKA PKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQLSSYPLSFGGGTKVEIK |
| 69 | 4A10 V _L | DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKT PKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQLSSYPLTFGGGTKVEIK |
| 70 | 7B1-1F5 V _L | DIQLTQSPSSFSASTGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKA PKVLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYY CQQLKSYPLTFGGGTKLEIK |

Таблица 4: Характерные последовательности

| SEQ ID NO: | Описание | Последовательность |
|------------|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 71 | Полноразмерная PcrV | MEVRNLNAARELFLDELLAASAAPASAEQEELLALLRSEIVLAHAGQP LSEAQVLKALAWLLAANPSAPPGQGLEVLREVLQARRQPGAQWDLRE FLVSAYFSLHGRLDEDVIGVYKDV LQTQDGKRKALLDELKALTAELKVYSVIQSQINAALSAKQGIRIDAGGID LVDPTLYGYAVGDPRWKDSPEYALLSNLDTFSGKLSIKDFLSGSPKQS GELKGLSDEYPFEKDNNPVGNFATTVSDRSRPLNDKVNEKTTLLNDTS SRYNSAVEALNRFIQKYDSVLRDILSAI |
| 72 | Константная область легкой цепи | RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC |
| 73 | Константная область тяжелой цепи IgG1 | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| 74 | Константная область тяжелой цепи IgG4 | ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF |

| | | |
|--|--|----------------------------------------------|
| | | FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNNHYTQKSLSLSLGK |
|--|--|----------------------------------------------|

Аффинность связывания

[00148] Аффинность связывания может быть обозначена как K_d , K_{off} , K_{on} или K_a . Термин « K_{off} », используемый в данном документе, предназначен для обозначения константы скорости диссоциации для диссоциации антитела от комплекса антитело/антиген, как определено в кинетической селекции. Термин « K_{on} », используемый в данном документе, относится к константе скорости связывания антитела с антигеном с образованием комплекса антитело/антиген. Термин равновесная константа диссоциации « K_d », используемый в контексте данного документа, относится к константе диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген и описывает концентрацию антигена, необходимую для того, чтобы занять половину всех доменов связывания антител, присутствующих в растворе молекулы антител в равновесии и равна K_{off}/K_{on} . Измерение K_d предполагает, что все связывающие агенты находятся в растворе. В случае, когда антитело связано с клеточной стенкой, например, в системе экспрессии дрожжей, соответствующая константа равновесной скорости выражается как EC_{50} , что дает хорошее приближение K_d . Константа аффинности K_a является обратной величиной константы диссоциации K_d .

[00149] Константу диссоциации (K_d) используют в качестве индикатора, показывающего аффинность фрагментов антитела к антигенам. Например, возможен простой анализ по методу Скэтчарда с использованием антител, меченных различными метящими агентами, а также с помощью Biacore (производство Amersham Biosciences), анализа биомолекулярных взаимодействий методом поверхностного плазмонного резонанса согласно инструкции пользователя и прилагаемому набору. Значение K_d , которое можно получить с помощью этих способов, выражается в единицах М (моль). Антитело, которое специфически связывается с мишенью, может иметь K_d , например, $\leq 10^{-7}$ М, $\leq 10^{-8}$ М, $\leq 10^{-9}$ М, $\leq 10^{-10}$ М, $\leq 10^{-11}$ М, $\leq 10^{-12}$ М или $\leq 10^{-13}$ М.

[00150] Специфичность связывания антитела можно определить экспериментальными способами, известными в данной области техники. Такие способы включают, но не ограничиваются ими, Вестерн-блоты, ELISA-, RIA-, ECL-, IRMA-, EIA-, Biacore-тесты и сканирование пептидов.

[00151] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело специфически связывается с мишенью PcrV с K_d от примерно 10^{-7} М до примерно 10^{-13} М (например, от примерно 10^{-7} М до примерно 10^{-13} М, от примерно 10^{-8} М до примерно 10^{-13} М, от примерно 10^{-9} М до примерно 10^{-13} М или от примерно 10^{-10} М до примерно 10^{-12} М). Таким образом, в некоторых вариантах реализации K_d связывания между анти-PcrV антителом и PcrV составляет от примерно 10^{-7} М до примерно 10^{-13} М, от примерно 1×10^{-7} М до примерно 5×10^{-13} М, от примерно 10^{-7} М до примерно 10^{-12} М, от примерно 10^{-7} М до примерно 10^{-11} М, от примерно 10^{-7} М до примерно 10^{-10} М, от примерно 10^{-7} М до примерно 10^{-9} М, от примерно 10^{-8} М до примерно 10^{-13} М, от примерно 1×10^{-8} М до примерно 5×10^{-13} М, от примерно 10^{-8} М до примерно 10^{-12} М, от примерно 10^{-8} М до примерно 10^{-11} М, от примерно 10^{-8} М до примерно 10^{-10} М, от примерно 10^{-8} М до примерно 10^{-9} М, от примерно 5×10^{-9} М до примерно 1×10^{-13} М, от примерно 5×10^{-9} М до примерно 1×10^{-12} М, от примерно 5×10^{-9} М до примерно 1×10^{-11} М, от примерно 5×10^{-9} М до примерно 1×10^{-10} М, от примерно 10^{-9} М до примерно 10^{-13} М, от примерно 10^{-9} М до примерно 10^{-12} М, от примерно 10^{-9} М до примерно 10^{-11} М, от примерно 10^{-9} М до примерно 10^{-10} М, от примерно 5×10^{-10} М до примерно 1×10^{-13} М, от примерно 5×10^{-10} М до примерно 1×10^{-12} М, от примерно 5×10^{-10} М до примерно 1×10^{-11} М, от примерно 10^{-10} М до примерно 10^{-13} М, от примерно 1×10^{-10} М до примерно 5×10^{-13} М, от примерно 1×10^{-10} М до примерно 1×10^{-12} М, от примерно 1×10^{-10} М до примерно 1×10^{-11} М, от примерно 10^{-11} М до примерно 10^{-13} М, от примерно 1×10^{-11} М до примерно 5×10^{-13} М, от примерно 10^{-11} М до примерно 10^{-12} М или от примерно 10^{-12} М до примерно 10^{-13} М. В некоторых вариантах реализации K_d связывания между анти-PcrV антителом и PcrV составляет от примерно 10^{-7} М до примерно 10^{-13} М.

[00152] В некоторых вариантах реализации K_d связывания между анти-PcrV-антителом и не-мишенью выше, чем K_d связывания между анти-PcrV-антителом и мишенью, и в настоящем документе упоминается в некоторых вариантах реализации, поскольку аффинность связывания анти-PcrV антитела с мишенью (например, PcrV) выше, чем с не-мишенью. В некоторых вариантах реализации не-мишенью является антиген, не являющийся PcrV. В некоторых вариантах реализации K_d связывания между анти-PcrV антителом (против PcrV) и не-PcrV мишенью может быть по меньшей мере примерно в 10 раз,

например, примерно в 10-100 раз, примерно в 100-1000 раз, примерно в 10^3 - 10^4 раз, примерно 10^4 - 10^5 раз, примерно 10^5 - 10^6 раз, примерно 10^6 - 10^7 раз, примерно 10^7 - 10^8 раз, примерно 10^8 - 10^9 раз, примерно 10^9 - 10^{10} раз, примерно 10^{10} - 10^{11} раз или примерно 10^{11} - 10^{12} раз больше K_d связывания между анти-PcrV антителом и мишенью PcrV.

Нуклеиновые кислоты

[00153] Также рассматриваются молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие анти-PcrV антитела. В некоторых вариантах реализации предложена нуклеиновая кислота (или набор нуклеиновых кислот), кодирующая полноразмерное анти-PcrV антитело, включая любое из описанных в настоящем документе полноразмерных анти-PcrV антител. В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота (или набор нуклеиновых кислот), кодирующая анти-PcrV антитело, описанное в настоящем документе, может дополнительно содержать последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую пептидную метку (такую как метка очистки белка, например, His-метка, HA-метка).

[00154] Также в настоящей заявке рассматриваются выделенные клетки-хозяева, содержащие анти-PcrV антитело, выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую полипептидные компоненты анти-PcrV антитела, или вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую полипептидные компоненты анти-PcrV антитела, описанные в настоящем документе.

[00155] Настоящая заявка также включает варианты этих последовательностей нуклеиновых кислот. Например, варианты включают нуклеотидные последовательности, которые гибридизуются с последовательностями нуклеиновых кислот, кодирующими анти-PcrV антитела согласно настоящей заявке, по меньшей мере, в умеренно жестких условиях гибридизации.

[00156] В настоящей заявке также предложены векторы, в которые встроена нуклеиновая кислота согласно настоящей заявке.

[00157] Вкратце, экспрессия анти-PcrV антитела (например, полноразмерного анти-PcrV антитела) природной или синтетической нуклеиновой кислотой, кодирующей анти-PcrV антитело, может быть достигнута путем вставки нуклеиновой кислоты в соответствующий вектор экспрессии, так что нуклеиновая кислота функционально связана с 5'- и 3'-регуляторными элементами, включая,

например, промотор (*например*, специфичный для лимфоцитов промотор) и 3'-нетранслируемую область (UTR). Векторы могут быть подходящими для репликации и интеграции в эукариотических клетках-хозяевах. Типичные векторы клонирования и экспрессии содержат терминаторы транскрипции и трансляции, последовательности инициации и промоторы, пригодные для регуляции экспрессии желаемой последовательности нуклеиновой кислоты.

[00158] Нуклеиновые кислоты согласно настоящей заявке можно также применять для иммунизации нуклеиновыми кислотами и генной терапии с использованием стандартных протоколов доставки генов. Способы доставки генов известны в данной области техники. См., например, патенты США № 5399346; 5580859; 5589466, полностью включенные в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации предложено применение генно-терапевтического вектора.

[00159] Нуклеиновая кислота может быть клонирована в ряд типов векторов.

Например, нуклеиновая кислота может быть клонирована в вектор, включающий, но не ограничивающийся ими, плазмиду, фагмиду, производное фага, вирус животного и космиду. Векторы, представляющие особый интерес, включают векторы экспрессии, векторы репликации, векторы генерации зондов и векторы секвенирования.

[00160] Кроме того, вектор экспрессии может быть введен в клетку в форме вирусного вектора. Технология вирусных векторов хорошо известна в данной области техники и описана, например, в Green and Sambrook (2013, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York) и в других руководствах по вирусологии и молекулярной биологии. Вирусы, которые можно применять в качестве векторов, включают, но не ограничиваются ими, ретровирусы, аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, вирусы герпеса и лентивирусы. Как правило, подходящий вектор содержит точку начала репликации, функционирующую по меньшей мере в одном организме, промоторную последовательность, подходящие сайты рестрикционных эндонуклеаз и один или более селективируемых маркеров (*см., например*, WO 01/96584; WO 01/29058; и патент США № № 6326193).

[00161] Ряд основанных на вирусах систем был разработан для переноса генов в клетки млекопитающих. Например, ретровирусы обеспечивают удобную

платформу для систем доставки генов. Выбранный ген можно встроить в вектор и упаковать в ретровирусные частицы с применением способов, известных в данной области техники. Затем рекомбинантный вирус можно выделить и доставить в клетки субъекта либо *in vivo*, либо *ex vivo*. В данной области техники известен ряд ретровирусных систем. В некоторых вариантах реализации применяют аденовирусные векторы. В данной области техники известен ряд аденовирусных векторов. В некоторых вариантах реализации применяют лентивирусные векторы. Векторы, полученные из ретровирусов, таких как лентивирус, являются подходящими инструментами для достижения долгосрочного переноса генов, поскольку они обеспечивают долгосрочную стабильную интеграцию трансгена и его размножение в дочерних клетках. Лентивирусные векторы имеют дополнительное преимущество перед векторами, полученными из онкоретровирусов, таких как вирусы мышинового лейкоза, в том, что они могут трансдуцировать непролиферирующие клетки, такие как гепатоциты. Они также имеют дополнительное преимущество низкой иммуногенности.

[00162] Дополнительные промоторные элементы, *например*, энхансеры, регулируют частоту инициации транскрипции. Как правило, они расположены в области 30-110 п.н. выше стартового сайта, хотя недавно было показано, что ряд промоторов также содержит функциональные элементы ниже стартового сайта. Расстояние между элементами промотора часто является гибким, так что функция промотора сохраняется, когда элементы инвертируются или перемещаются друг относительно друга. В промоторе тимидинкиназы (tk) расстояние между элементами промотора может быть увеличено до 50 п.н., прежде чем активность начнет снижаться.

[00163] Одним из примеров подходящего промотора является последовательность немедленно-раннего промотора цитомегаловируса (CMV). Эта промоторная последовательность представляет собой сильную конститутивную промоторную последовательность, способную обеспечивать высокие уровни экспрессии любой полинуклеотидной последовательности, функционально связанной с ней. Другим примером подходящего промотора является фактор элонгации-1 α (EF-1 α). Однако также могут быть использованы другие конститутивные промоторные последовательности, включая, помимо прочего, ранний промотор обезьяньего вируса 40 (SV40), вирус опухоли молочной

железы мышцы (MMTV), промотор длинного концевой повтора (LTR) вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), MoMuLV промотор, промотор вируса птичьего лейкоза, немедленно-ранний промотор вируса Эпштейна-Барра, промотор вируса саркомы Рауса, а также промоторы генов человека, такие как, но не ограничиваясь ими, промотор актина, промотор миозина, промотор гемоглобина и промотор креатинкиназы. Кроме того, применение не должно ограничиваться применением конститутивных промоторов. Индуцируемые промоторы также рассматриваются как часть заявки. Применение индуцируемого промотора обеспечивает молекулярный переключатель, способный включать экспрессию полинуклеотидной последовательности, с которой он оперативно связан, когда такая экспрессия желательна, или выключать экспрессию, когда экспрессия нежелательна. Примеры индуцируемых промоторов включают, но не ограничиваются ими, металлотиониновый промотор, глюкокортикоидный промотор, прогестероновый промотор и тетрациклиновый промотор.

15 **[00164]** В некоторых вариантах реализации экспрессия анти-PcrV антитела является индуцируемой. В некоторых вариантах реализации последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая анти-PcrV антитело, функционально связана с индуцируемым промотором, включая любой индуцируемый промотор, описанный в настоящем документе.

20 *Индуцируемые промоторы*

[00165] Использование индуцируемого промотора обеспечивает молекулярный переключатель, способный включать экспрессию полинуклеотидной последовательности, с которой он оперативно связан, когда такая экспрессия желательна, или выключать экспрессию, когда экспрессия нежелательна.

25 Примеры индуцируемых промоторных систем для применения в эукариотических клетках включают, но не ограничиваются ими, гормон-регулируемые элементы (например, см. Mader, S. and White, J. H. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5603-5607), синтетические элементы, регулируемые лигандом (см., например, Spencer, D. M. et al 1993) Science 262: 1019-1024) и элементы, регулируемые ионизирующим излучением (например, см. Manome, Y. et al. (1993) Biochemistry 32: 10607-10613; Datta, R. et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 1014- 10153).

30 Дополнительные типичные индуцируемые промоторные системы для применения in vitro или in vivo в системах млекопитающих рассмотрены в Gingrich et al. (1998)

Annual Rev. Neurosci 21:377-405. В некоторых вариантах реализации индуцируемой промоторной системой для применения для экспрессии анти-PcrV-антитела является система Tet. В некоторых вариантах реализации индуцируемой промоторной системой для применения для экспрессии анти-PcrV-антитела является lac-репрессорная система из *E. coli*.

[00166] Типовой индуцируемой промоторной системой для использования в настоящей заявке является система Tet. Такие системы основаны на системе Tet, описанной Gossen et al. (1993). В типичном варианте реализации представляющий интерес полинуклеотид находится под контролем промотора, который содержит один или более сайтов оператора Tet (TetO). В неактивном состоянии репрессор Tet (TetR) будет связываться с сайтами TetO и подавлять транскрипцию с промотора. В активном состоянии, *например*, в присутствии индуцирующего агента, такого как тетрациклин (Tc), ангидротетрациклин, доксициклин (Dox) или их активный аналог, индуцирующий агент вызывает высвобождение TetR из TetO, тем самым обеспечивая возможность транскрипции. Доксициклин является членом семейства тетрациклиновых антибиотиков, имеющих химическое название 1-диметиламино-2,4а,5,7,12-пентагидрокси-11-метил-4,6-диоксо-1,4а,11,11а,12,12 а-гексагидротетрацен-3-карбоксамид.

[00167] В одном варианте реализации TetR оптимизирован по кодомам для экспрессии в клетках млекопитающих, например, мышинных или человеческих клетках. Большинство аминокислот кодируются более чем одним кодоном из-за вырожденности генетического кода, что допускает существенные вариации в нуклеотидной последовательности данной нуклеиновой кислоты без каких-либо изменений в аминокислотной последовательности, кодируемой нуклеиновой кислотой. Тем не менее, многие организмы демонстрируют различия в использовании кодонов, также известные как «предпочтение кодонов» (т. е. предпочтение в отношении использования определенных кодонов для данной аминокислоты). Смещение кодонов часто коррелирует с присутствием преобладающих видов тРНК для определенного кодона, что, в свою очередь, увеличивает эффективность трансляции мРНК. Соответственно, кодирующую последовательность, полученную из конкретного организма (например, прокариот), можно адаптировать для улучшенной экспрессии в другом организме (например, эукариоте) посредством оптимизации кодонов.

[00168] Другие конкретные варианты системы Tet включают следующие системы «Tet-Off» и «Tet-On». В системе Tet-Off транскрипция неактивна в присутствии Tc или Dox. В этой системе контролируемый тетрациклином белок-трансактиватор (tTA), который состоит из TetR, слитого с сильным трансактивирующим доменом VP16 из вируса простого герпеса, регулирует экспрессию целевой нуклеиновой кислоты, которая находится под транскрипционным контролем тетрациклин-чувствительного промоторного элемента (TRE). TRE состоит из конкатамеров последовательности TetO, слитых с промотором (обычно это минимальная промоторная последовательность, полученная из немедленно-раннего промотора цитомегаловируса человека (hCMV)). В отсутствие Tc или Dox tTA связывается с TRE и активирует транскрипцию гена-мишени. В присутствии Tc или Dox tTA не может связываться с TRE, и экспрессия гена-мишени остается неактивной.

[00169] Наоборот, в системе Tet-On транскрипция активна в присутствии Tc или Dox. Система Tet-On основана на обратном трансактиваторе, контролируемом тетрациклином, rtTA. Подобно tTA, rtTA представляет собой слитый белок, состоящий из репрессора TetR и домена трансактивации VP16. Однако замена четырех аминокислот в ДНК-связывающем фрагменте TetR изменяет характеристики связывания rtTA таким образом, что он может распознавать последовательности tetO в TRE целевого трансгена только в присутствии Dox. Таким образом, в системе Tet-On транскрипция регулируемого TRE гена-мишени стимулируется rtTA только в присутствии Dox.

[00170] Другой индуцируемой промоторной системой является lac-репрессорная система *E.coli* (см. Brown et al., Cell 49:603-612 (1987)). lac-репрессорная система функционирует, регулируя транскрипцию представляющего интерес полинуклеотида, функционально связанного с промотором, содержащим lac-оператор (lacO). Lac-репрессор (lacR) связывается с LacO, тем самым предотвращая транскрипцию представляющего интерес полинуклеотида. Экспрессию представляющего интерес полинуклеотида индуцируют подходящим индуцирующим агентом, например, изопропил- β -D-тиогалактопиранозидом (IPTG).

[00171] Чтобы оценить экспрессию полипептида или его частей, вектор экспрессии, подлежащий введению в клетку, может также содержать либо селективный маркерный ген, либо репортерный ген, либо и то, и другое для

облегчения идентификации и отбора экспрессирующих клеток из популяции клеток, которые стремились трансфицировать или заразить с помощью вирусных векторов. В других аспектах селектируемый маркер может быть перенесен на отдельный фрагмент ДНК и использован в процедуре котрансфекции. Как
5 селектируемые маркеры, так и репортерные гены могут быть фланкированы соответствующими регуляторными последовательностями для обеспечения экспрессии в клетках-хозяевах. Подходящие селектируемые маркеры включают, например, гены устойчивости к антибиотикам, такие как нео и т.п.

[00172] Репортерные гены применяют для идентификации потенциально
10 трансфицированных клеток и для оценки функциональности регуляторных последовательностей. Как правило, репортерный ген представляет собой ген, который не присутствует или не экспрессируется в реципиентном организме или ткани и который кодирует полипептид, экспрессия которого проявляется некоторым легко обнаруживаемым свойством, например, ферментативной
15 активностью. Экспрессию репортерного гена анализируют в подходящее время после введения ДНК в клетки-реципиенты. Подходящие репортерные гены могут включать гены, кодирующие люциферазу, β -галактозидазу, хлорамфеникол-ацетилтрансферазу, секретлируемую щелочную фосфатазу или ген зеленого флуоресцентного белка (например, *Ui-Tel et al.*, 2000 *FEBS Letters*
20 479: 79-82). Подходящие системы экспрессии хорошо известны и могут быть получены с использованием известных методик или получены коммерческим путем. Как правило, конструкция с минимальной 5'-фланкирующей областью, демонстрирующая самый высокий уровень экспрессии репортерного гена, идентифицируется как промотор. Такие промоторные области могут быть связаны
25 с репортерным геном и использоваться для оценки агентов в отношении способности модулировать управляемую промотором транскрипцию.

[00173] В некоторых вариантах реализации предложена нуклеиновая кислота, кодирующая полноразмерное анти-PcrV антитело в соответствии с любым из описанных в настоящем документе полноразмерных анти-PcrV антител. В
30 некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота содержит одну или более последовательностей нуклеиновой кислоты, кодирующих тяжелую и легкую цепи полноразмерного анти-PcrV антитела. В некоторых вариантах реализации каждая из одной или более последовательностей нуклеиновых кислот содержится в

отдельных векторах. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере некоторые последовательности нуклеиновых кислот содержатся в одном и том же векторе. В некоторых вариантах реализации все последовательности нуклеиновых кислот содержатся в одном векторе. Векторы могут быть выбраны, например, из группы, состоящей из векторов экспрессии млекопитающих и вирусных векторов (таких, как полученные из ретровирусов, аденовирусов, аденоассоциированных вирусов, вирусов герпеса и лентивирусов).

[00174] Способы введения и экспрессии генов в клетке известны в данной области техники. В контексте вектора экспрессии этот вектор можно легко ввести в клетку-хозяина, например, в клетку млекопитающего, бактерий, дрожжей или насекомых, любым способом, известным в данной области техники. Например, вектор экспрессии можно переносить в клетку-хозяина физическими, химическими или биологическими средствами.

[00175] Физические способы введения полинуклеотида в клетку-хозяина включают осаждение фосфатом кальция, липофекцию, бомбардировку частицами, микроинъекцию, электропорацию и т.п. Способы получения клеток, содержащих векторы и/или экзогенные нуклеиновые кислоты, хорошо известны в данной области техники. См., например, Green and Sambrook (2013, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York). В некоторых вариантах реализации введение полинуклеотида в клетку-хозяина осуществляется путем трансфекции фосфатом кальция.

[00176] Биологические способы введения представляющего интерес полинуклеотида в клетку-хозяина включают использование ДНК- и РНК-векторов. Вирусные векторы, и особенно ретровирусные векторы, стали наиболее широко используемым способом встраивания генов в клетки млекопитающих, например, клетки человека. Другие вирусные векторы могут быть получены из лентивирусов, поксвирусов, вируса простого герпеса 1, аденовирусов и аденоассоциированных вирусов и т.п. См., например, патенты США №№ 5350674 и 5585362.

[00177] Химические средства для введения полинуклеотида в клетку-хозяина включают системы коллоидной дисперсии, такие как комплексы макромолекул, нанокапсулы, микросферы, шарики и системы на основе липидов, включая эмульсии масло-в-воде, мицеллы, смешанные мицеллы и липосомы. Типовой

коллоидной системой для применения в качестве средства доставки *in vitro* и *in vivo* является липосома (например, везикула с искусственной мембраной).

[00178] В случае, когда используется невирусная система доставки, примером средства доставки является липосома. Предполагается применение липидных составов для введения нуклеиновых кислот в клетку-хозяина (*in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*). В другом аспекте нуклеиновая кислота может быть связана с липидом. Нуклеиновая кислота, связанная с липидом, может быть инкапсулирована в водной среде липосомы, вставлена в липидный бислой липосомы, присоединена к липосоме с помощью связывающей молекулы, которая связана как с липосомой, так и с олигонуклеотидом, захвачена липосомой, образует комплекс с липосомой, диспергирована в растворе, содержащем липид, смешана с липидом, объединена с липидом, содержится в виде суспензии в липиде, содержится или образует комплекс с мицеллой, или иным образом связана с липидом. Композиции, связанные с липидом, липидом/ДНК или липидом/вектором экспрессии, не ограничиваются какой-либо конкретной структурой в растворе. Например, они могут присутствовать в структуре бислоя, в виде мицелл или в «свернутой» структуре. Они также могут быть просто перемешаны в растворе, возможно, образуя агрегаты, неоднородные по размеру или форме. Липиды представляют собой жирные вещества, которые могут представлять собой природные или синтетические липиды. Например, липиды включают жирные капли, которые естественным образом встречаются в цитоплазме, а также класс соединений, содержащих длинноцепочечные алифатические углеводороды и их производные, такие как жирные кислоты, спирты, амины, аминокислоты и альдегиды.

[00179] Независимо от способа, используемого для введения экзогенных нуклеиновых кислот в клетку-хозяин или иного воздействия на клетку ингибитора согласно настоящей заявке, для подтверждения присутствия последовательности рекомбинантной ДНК в клетке-хозяине применяют различные анализы. Такие анализы включают, например, «молекулярно-биологические» анализы, хорошо известные специалистам в данной области техники, такие как саузерн- и нозерн-блоттинг, ОТ-ПЦР и ПЦР; «биохимические» анализы, такие как обнаружение присутствия или отсутствия определенного пептида, например, с помощью иммунологических средств (ELISA и вестерн-блоттинга) или анализов,

описанных в настоящем документе, для идентификации агентов, подпадающих под объем заявки.

Получение анти-PcrV антител

- 5 **[00180]** В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело представляет собой моноклональное антитело или полученное из моноклонального антитела. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит домены V_H и V_L или их варианты из моноклонального антитела. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело дополнительно содержит домены C_{H1} и C_L или их варианты из моноклонального антитела. Моноклональные антитела могут быть
- 10 получены, например, с использованием известных в данной области техники способов, включая способы гибридомы, способы дрожжевого дисплея, способы фагового дисплея или способы рекомбинантной ДНК. Кроме того, в настоящем документе и в приведенных ниже примерах описаны иллюстративные способы дрожжевого и фагового дисплеев.
- 15 **[00181]** В способе гибридомы хомяка, мышь или другое подходящее животное-хозяин обычно иммунизируют иммунизирующим агентом для выявления лимфоцитов, которые продуцируют или способны продуцировать антитела, которые будут специфически связываться с иммунизирующим агентом. Альтернативно, лимфоциты можно иммунизировать *in vitro*. Иммунизирующий
- 20 агент может включать полипептид или слитый белок представляющего интерес белка. Как правило, лимфоциты периферической крови («PBL») используются, если желательны клетки человеческого происхождения, или клетки селезенки или клетки лимфатических узлов используются, если желательны источники млекопитающих, отличных от человека. Затем лимфоциты сливают с
- 25 иммортализованной клеточной линией с использованием подходящего агента слияния, такого как полиэтиленгликоль, с образованием клетки гибридомы. Иммортализованные клеточные линии обычно представляют собой трансформированные клетки млекопитающих, в частности, клетки миеломы грызунов, крупного рогатого скота и человека. Обычно используют клеточные
- 30 линии крысиной или мышьиной миеломы. Клетки гибридомы можно культивировать в подходящей культуральной среде, которая предпочтительно содержит одно или более веществ, ингибирующих рост или выживание неслитых иммортализованных

клеток. Например, если в родительских клетках отсутствует фермент гипоксантингуанинфосфорибозилтрансфераза (HGPRT или HPRT), культуральная среда для гибридом обычно будет включать гипоксантин, аминоптерин и тимидин («среда HAT»), что предотвращает рост HGPRT-дефицитных клеток.

5 **[00182]** В некоторых вариантах реализации immortalized клеточные линии эффективно сливаются, поддерживают стабильный высокий уровень экспрессии антител выбранными клетками, продуцирующими антитела, и чувствительны к среде, такой как среда HAT. В некоторых вариантах реализации immortalized клеточными линиями являются линии мышинной миеломы, 10 которые могут быть получены, например, из Центра распределения клеток Института Солка, Сан-Диего, Калифорния, и из Американской коллекции типовых культур, Манассас, Вирджиния. Клеточные линии миеломы человека и мышино-человеческой гетеромиеломы также были описаны для продукции моноклональных антител человека.

15 **[00183]** Культуральную среду, в которой культивируют клетки гибридомы, можно затем проанализировать на наличие моноклональных антител, направленных против полипептида. Специфичность связывания моноклональных антител, продуцируемых клетками гибридомы, можно определить с помощью иммуопреципитации или анализа связывания *in vitro*, такого как 20 радиоиммуноанализ (RIA) или твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA). Такие методики и анализы известны в данной области техники. Аффинность связывания моноклонального антитела может быть определена, например, с помощью анализа Скэтчарда согласно Munson and Pollard, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980).

25 **[00184]** После того, как требуемые клетки гибридомы идентифицированы, клоны могут быть субклонированы с помощью процедур лимитирующих разведений и выращены стандартными способами. Goding, *см. выше*. Подходящие для этой цели питательные среды включают, например, среду Игла, модифицированную Дульбекко, и среду RPMI-1640. Альтернативно, клетки гибридомы можно 30 выращивать *in vivo* в виде асцита у млекопитающего.

[00185] Моноклональные антитела, секретлируемые субклонами, могут быть выделены или очищены из культуральной среды или асцитной жидкости с помощью обычных процедур очистки иммуноглобулинов, таких как, например,

белок А-сефароза, хроматография на гидроксилпатите, гель-электрофорез, диализ или аффинная хроматография.

[00186] В некоторых вариантах реализации согласно любому из анти-PcrV-антител, описанных в настоящем документе, анти-PcrV антитело
5 содержит последовательности из клона, выбранного из библиотеки антител (такой как фаговая библиотека, представляющая scFv или Fab-фрагменты). Клон можно идентифицировать путем скрининга комбинаторных библиотек на предмет фрагментов антител с желаемой активностью или активностями. Например, в данной области техники известны различные способы создания библиотек
10 фагового дисплея и скрининга таких библиотек на наличие антител, обладающих желаемыми характеристиками связывания. Такие способы рассмотрены, например, в Hoogenboom *et al.*, *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, N.J., 2001) и дополнительно описаны, например, в McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554; Clackson *et al.*, *Nature* 352: 624-628 (1991);
15 Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, N.J., 2003); Sidhu *et al.*, *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee *et al.*, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); и Lee *et al.*, *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004).

[00187] В некоторых способах фагового дисплея репертуары генов V_H и V_L отдельно клонируют с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и случайным образом рекомбинируют в фаговых библиотеках, которые затем можно подвергать скринингу на наличие антигенсвязывающего фага, как описано в Winter *et al.*, *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994). Фаги обычно отображают фрагменты антител
25 либо в виде фрагментов scFv, либо в виде фрагментов Fab. Библиотеки из иммунизированных источников обеспечивают высокоаффинные антитела к иммуногену без необходимости конструирования гибридом. В качестве альтернативы, наивный репертуар можно клонировать (например, от человека) для получения единого источника антител к широкому спектру чужеродных, а
30 также собственных антигенов без какой-либо иммунизации, как описано Griffiths *et al.*, *EMBO J*, 12: 725-734 (1993). Наконец, наивные библиотеки также могут быть получены синтетическим путем клонированием нереаранжированных сегментов V-гена из стволовых клеток и использования праймеров для ПЦР, содержащих

случайную последовательность, для кодирования высоковариабельных областей CDR3 и выполнения реаранжировки *in vitro*, как описано Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992). Патентные публикации, описывающие фаговые библиотеки человеческих антител, включают, например: патент США № 5750373 и публикации патентов США № 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 и 2009/0002360.

[00188] Анти-PcrV антитела могут быть получены с использованием фагового дисплея для скрининга библиотек по фрагментам анти-PcrV антител, специфичных для PcrV-мишени. Библиотека может представлять собой библиотеку фагового дисплея человека scFv, имеющую разнообразие по меньшей мере один $\times 10^9$ (например, по меньшей мере приблизительно любое из 1×10^9 , 2.5×10^9 , 5×10^9 , 7.5×10^9 , 1×10^{10} , 2.5×10^{10} , 5×10^{10} , 7.5×10^{10} или 1×10^{11}) уникальных фрагментов антител человека. В некоторых вариантах реализации библиотека представляет собой наивную человеческую библиотеку, сконструированную из ДНК, выделенной из человеческих РМВС и селезенки здоровых доноров, охватывающую все подсемейства тяжелых и легких цепей человека. В некоторых вариантах реализации библиотека представляет собой наивную человеческую библиотеку, сконструированную из ДНК, выделенной из РВМС, выделенных от пациентов с различными заболеваниями, таких как больные аутоиммунными заболеваниями, онкологические больные и больные инфекционными заболеваниями. В некоторых вариантах реализации библиотека представляет собой полусинтетическую человеческую библиотеку, в которой CDR3 тяжелой цепи полностью рандомизирована, при этом все аминокислоты (за исключением цистеина) с равной вероятностью присутствуют в любом заданном положении (см., например, Hoet, R.M. *et al.*, *Nat. Biotechnol.* 23(3):344-348, 2005). В некоторых вариантах реализации CDR3 тяжелой цепи полусинтетической библиотеки человека имеет длину от примерно 5 до примерно 24 (например, примерно любую из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24) аминокислот. В некоторых вариантах реализации библиотека представляет собой полностью синтетическую библиотеку фагового дисплея. В некоторых вариантах реализации библиотека представляет собой нечеловеческую библиотеку фагового дисплея.

[00189] Фаговые клоны, которые связываются с целевым PcrV с высокой аффинностью, могут быть отобраны путем итеративного связывания фага с целевым PcrV, который связан с твердой подложкой (такой как, например, шарики для пэннинга в растворе или клетки млекопитающих для клеточного пэннинга) с последующим удалением несвязанного фага и элюированием специфически связанного фага. Связанные фаговые клоны затем элюируют и используют для инфицирования соответствующей клетки-хозяина, такой как *E. coli* XL1-Blue, для экспрессии и очистки. Пэннинг можно проводить в течение нескольких раундов (например, примерно любой из 2, 3, 4, 5, 6 или более) с пэннингом в растворе, пэннингом клеток или их комбинацией, чтобы обогатить фаговые клоны, специфически связывающиеся с PcrV-мишенью. Обогащенные фаговые клоны можно тестировать на специфическое связывание с PcrV-мишенью любыми способами, известными в данной области техники, включая, например, ELISA и FACS.

[00190] Моноклональные антитела также могут быть получены способами рекомбинантной ДНК, такими как способы, описанные в патенте США № 4816567. ДНК, кодирующая моноклональные антитела согласно настоящей заявке, может быть легко выделена и секвенирована с использованием обычных процедур (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, которые способны специфически связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи мышинных антител). Клетки гибридомы, как описано выше, или PcrV-специфические фаговые клоны заявки могут служить источником такой ДНК. После выделения ДНК можно поместить в векторы экспрессии, которые затем трансфицируют в клетки-хозяева, такие как обезьяньи клетки COS, клетки яичника китайского хомяка (СНО) или клетки миеломы, которые иначе не продуцируют белок иммуноглобулина, для получения синтеза моноклонального антитела в рекомбинантных клетках-хозяевах. ДНК также можно модифицировать, например, путем замены кодирующей последовательности константных доменов тяжелой и легкой цепи человека и/или каркасных областей на гомологичные нечеловеческие последовательности (патент США № 4816567; Morrison et al. , выше) или путем ковалентного присоединения к кодирующей иммуноглобулин последовательности всей или части кодирующей последовательности полипептида, не являющегося иммуноглобулином. Такой не являющийся иммуноглобулином полипептид может

быть заменен на константные домены антитела согласно настоящей заявке или может быть заменен на переменные домены одного антигенсвязывающего сайта антитела согласно настоящей заявке для создания химерного бивалентного антитела.

5 **[00191]** Антитела могут представлять собой моновалентные антитела. Способы получения моновалентных антител известны в данной области техники. Например, один способ включает рекомбинантную экспрессию легкой цепи иммуноглобулина и модифицированной тяжелой цепи. Тяжелая цепь укорочена, как правило, в любой точке Fc-области, чтобы предотвратить перекрестное сшивание тяжелой

10 цепи. В качестве альтернативы, соответствующие цистеиновые остатки заменены другим аминокислотным остатком или удалены, чтобы предотвратить перекрестное связывание.

[00192] Способы *in vitro* также подходят для получения моновалентных антител. Расщепление антител с получением их фрагментов, особенно Fab-фрагментов,

15 можно осуществить с использованием любого способа, известного в данной области техники.

[00193] Переменные домены антител с желаемой специфичностью связывания (сайты объединения антитело-антиген) могут быть слиты с последовательностями константных доменов иммуноглобулина. Слияние предпочтительно происходит с константным доменом тяжелой цепи иммуноглобулина, включающим по меньшей мере часть шарнирной, CH2- и CH3-областей. В некоторых вариантах реализации первая константная область тяжелой цепи (CH1), содержащая сайт, необходимый для связывания легкой цепи, присутствует по меньшей мере в одном из гибридов.

20 ДНК, кодирующие гибриды тяжелых цепей иммуноглобулина и, при желании, легкую цепь иммуноглобулина, встраивают в отдельные векторы экспрессии и котрансфицируют в подходящий организм-хозяин.

Человеческие и гуманизированные антитела

[00194] Анти-PcrV антитела (*например*, полноразмерные анти-PcrV антитела) могут представлять собой гуманизированные антитела или человеческие

30 антитела. Гуманизированные формы фрагментов нечеловеческих (*например*, мышинных) антител представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулинов или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, scFv или другие антигенсвязывающие субпоследовательности антител), которые обычно

содержат минимальную последовательность, полученную из нечеловеческого иммуноглобулина. Фрагменты гуманизированного антитела включают человеческие иммуноглобулины, цепи иммуноглобулинов или их фрагменты (реципиентное антитело), в которых остатки из CDR реципиента заменены
5 остатками из CDR вида, отличного от человека (донорное антитело), такого как мышь, крыса или кролик, обладающими желаемой специфичностью, аффинностью и емкостью. В некоторых случаях каркасные остатки Fv человеческого иммуноглобулина заменены соответствующими нечеловеческими остатками. Фрагменты гуманизированного антитела также могут содержать
10 остатки, которые не обнаруживаются ни в реципиентном антителе, ни в импортированных CDR или каркасных последовательностях. Как правило, гуманизированное антитело может содержать по существу все по меньшей мере один, а обычно два переменных домена, в которых все или по существу все области CDR соответствуют областям нечеловеческого иммуноглобулина, и все
15 или по существу все FR области представляют собой области консенсусной последовательности человеческого иммуноглобулина.

[00195] Как правило, гуманизированное антитело имеет один или более аминокислотных остатков, введенных в него из источника, который не является человеческим. Эти нечеловеческие аминокислотные остатки часто называют
20 «импортными» остатками, которые обычно берут из «импортного» переменного домена. В соответствии с некоторыми вариантами реализации гуманизация может быть осуществлена, по существу, по способу Винтера и его коллег (Jones *et al.*, *Nature*, 321: 522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature*, 332: 323-327 (1988); Verhoeven *et al.*, *Science*, 239: 1534-1536 (1988)), путем замены CDR грызунов или
25 последовательностей CDR на соответствующие последовательности человеческого антитела. Соответственно, такие «гуманизированные» фрагменты антител представляют собой фрагменты антител (патент США № 4816567), в которых существенно меньше, чем в интактном переменном домене человека, произведено замен соответствующей последовательностью из вида, отличного от
30 человека. На практике фрагменты гуманизированного антитела обычно представляют собой фрагменты антител человека, в которых некоторые остатки CDR и, возможно, некоторые остатки FR заменены остатками из аналогичных сайтов в антителах грызунов.

[00196] В качестве альтернативы гуманизации можно сгенерировать фрагменты человеческого антитела. Например, в настоящее время возможно получить трансгенных животных (например, мышей), которые способны после иммунизации продуцировать полный спектр человеческих антител в отсутствие продукции эндогенного иммуноглобулина. Например, было описано, что гомозиготная делеция гена области соединения тяжелой цепи антитела (JH) у химерных и мутантных мышей зародышевой линии приводит к полному ингибированию продукции эндогенных антител. Перенос массива генов иммуноглобулина зародышевой линии человека таким мутантным мышам зародышевой линии будет приводить к продукции человеческих антител при заражении антигеном. См., например, Jakobovits *et al.*, *PNAS USA*, 90:2551 (1993); Jakobovits *et al.*, *Nature*, 362:255-258 (1993); Bruggemann *et al.*, *Year in Immunol.*, 7:33 (1993); патент США № 5545806, 5569825, 5591669; 5545807; и WO 97/17852. В качестве альтернативы, человеческие антитела могут быть получены путем введения локусов иммуноглобулинов человека трансгенным животным, например мышам, у которых частично или полностью инактивированы эндогенные гены иммуноглобулина. При заражении наблюдается продукция человеческих антител, которая во всех отношениях очень похожа на таковую у людей, включая реаранжировку генов, сборку и репертуар антител. Этот подход описан, например, в патентах США № 5545807; 5545806; 5569825; 5625126; 5633425; и 5,661,016, и Marks *et al.*, *Bio/Technology*, 10: 779-783 (1992); Lonberg *et al.*, *Nature*, 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature*, 368: 812-813 (1994); Fishwild *et al.*, *Nature Biotechnology*, 14: 845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnology*, 14: 826 (1996); Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.*, 13: 65-93 (1995).

[00197] Человеческие антитела также могут быть получены с помощью активированных *in vitro* В-клеток (см. патенты США 5567610 и 5229275) или с использованием различных способов, известных в данной области техники, включая библиотеки фагового дисплея. Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991). Методики Cole *et al.* и Boerner *et al.* также доступны для получения человеческих моноклональных антител. Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985) и Boerner *et al.*, *J. Immunol.*, 147(1): 86-95 (1991).

Варианты анти-PcrV антитела

[00198] В некоторых вариантах реализации предложены варианты аминокислотной последовательности анти-PcrV антител (например, полноразмерные анти-PcrV антитела), представленные в настоящем документе.

5 Например, может быть желательно улучшить аффинность связывания и/или другие биологические свойства антитела. Варианты аминокислотной последовательности антитела могут быть получены путем внесения соответствующих модификаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, или путем пептидного синтеза. Такие модификации

10 включают, например, делеции, и/или вставки, и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела. Любая комбинация делеций, вставок и замен может быть использована для получения конечной конструкции при условии, что конечная конструкция обладает желаемыми характеристиками, например, связыванием антигена.

15 **[00199]** В некоторых вариантах реализации предложены варианты анти-PcrV антител, имеющие одну или более аминокислотных замен. Сайты, представляющие интерес для заместительного мутагенеза, включают HVR и FR. Аминокислотные замены могут быть введены в представляющее интерес антитело, а продукты подвергнуты скринингу на желаемую активность, например

20 улучшенную биологическую активность, сохраненное/улучшенное связывание антигена, сниженную иммуногенность или улучшенное опсонофагоцитарное уничтожение (ОПК) патогенов, таких как *P. aeruginosa*.

[00200] Консервативные замены показаны в Таблице 4 ниже.

ТАБЛИЦА 4: КОНСЕРВАТИВНЫЕ ЗАМЕНЫ

| Исходный остаток | Примеры замен | Предпочтительные замены |
|------------------|-------------------------|-------------------------|
| Ala (A) | Val; Leu; Ile | Val |
| Arg (R) | Lys; Gln; Asn | Lys |
| Asn (N) | Gln; His; Asp, Lys; Arg | Gln |
| Asp (D) | Glu; Asn | Glu |
| Cys (C) | Ser; Ala | Ser |
| Gln (Q) | Asn; Glu | Asn |
| Glu (E) | Asp; Gln | Asp |

| | | |
|---------|---------------------------------------|-----|
| Gly (G) | Ala | Ala |
| His (H) | Asn; Gln; Lys; Arg | Arg |
| Ile (I) | Leu; Val; Met; Ala; Phe; Норлейцин | Leu |
| Leu (L) | Норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe | Ile |
| Lys (K) | Arg; Gln; Asn | Arg |
| Met (M) | Leu; Phe; Ile | Leu |
| Phe (F) | Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr | Tyr |
| Pro (P) | Ala | Ala |
| Ser (S) | Thr | Thr |
| Thr (T) | Val; Ser | Ser |
| Trp (W) | Tyr; Phe | Tyr |
| Tyr (Y) | Trp; Phe; Thr; Ser | Phe |
| Val (V) | Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Норлейцин | Leu |

[00201] Аминокислоты могут быть сгруппированы в разные классы в соответствии с общими свойствами боковой цепи:

- a. гидрофобные: Норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- b. нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- 5 c. кислые: Asp, Glu;
- d. основные: His, Lys, Arg;
- e. остатки, влияющие на ориентацию цепи: Gly, Pro;
- f. ароматические: Trp, Tyr, Phe.

[00202] Неконсервативные замены влекут за собой замену члена одного из этих классов на другой класс.

[00203] Иллюстративный вариант замены представляет собой антитело с созревшей аффинностью, которое может быть легко получено, например, с применением методик созревания аффинности на основе фагового дисплея. Вкратце, один или более остатков CDR мутируют, а фрагменты варианта антитела экспонируют на фаге и подвергают скринингу на конкретную биологическую активность (например, биологическую активность, основанную на анализе ингибирования лизиса эритроцитов или аффинности связывания). В HVR могут быть внесены изменения (*например*, замены), например, для улучшения биологической активности на основе анализа ингибирования лизиса эритроцитов

или аффинности антител. Такие изменения могут быть сделаны в «горячих точках» HVR, то есть остатках, кодируемых кодонами, которые подвергаются мутациям с высокой частотой в процессе соматического созревания (см., например, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)), и/или определяющих специфичность остатках (SDR), при этом полученный вариант V_H или V_L тестируют на аффинность связывания. Созревание аффинности путем конструирования и повторного отбора из вторичных библиотек описано, например, в Hoogenboom *et al.* in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).)

10 **[00204]** В некоторых вариантах реализации созревания аффинности разнообразие вводят в переменные гены, выбранные для созревания, любым из множества способов (например, ПЦР с внесением ошибок, перетасовкой цепей или олигонуклеотид-направленным мутагенезом). Затем создают вторичную библиотеку. Затем библиотеку подвергают скринингу для выявления любых вариантов антител с желаемой аффинностью. Другой способ введения разнообразия включает подходы, направленные на HVR, в которых несколько остатков HVR (например, 4-6 остатков за раз) рандомизируются. Остатки HVR, участвующие в связывании антигена, могут быть специфически идентифицированы, например, с применением аланинового сканирующего мутагенеза или моделирования. CDR-H3 и CDR-L3, в частности, часто становятся мишенью.

25 **[00205]** В некоторых вариантах реализации замены, вставки или делеции могут возникать в одном или более HVR при условии, что такие изменения существенно не снижают способность антитела связывать антиген. Например, в HVR могут быть внесены консервативные изменения (например, консервативные замены, как предусмотрено в настоящем документе), которые существенно не снижают аффинность связывания. Такие изменения могут быть за пределами «горячих точек» HVR или SDR. В некоторых вариантах реализации вариантов последовательностей V_H и V_L , приведенных выше, каждая HVR либо не изменена, либо содержит не более одной, двух или трех аминокислотных замен.

30 **[00206]** Подходящий способ идентификации остатков или областей антитела, которые могут быть мишенями для мутагенеза, называется «мутагенез со сканированием аланина», как описано Cunningham and Wells (1989) *Science*,

244:1081-1085. В этом способе остаток или группу целевых остатков (*например*, заряженные остатки, такие как arg, asp, his, lys и glu) идентифицируют и заменяют нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (*например*, аланином или полиаланином) для определения влияет ли взаимодействие антитела с антигеном. Дополнительные замены могут быть введены в положения аминокислот, демонстрирующие функциональную чувствительность к исходным заменам. В качестве альтернативы или дополнительно можно определить кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело для идентификации точек контакта между антителом и антигеном. Такие контактные остатки и соседние остатки могут быть выбраны или исключены как кандидаты на замену. Варианты могут быть проверены, чтобы определить, содержат ли они желаемые свойства.

[00207] Вставки аминокислотной последовательности включают amino- и/или карбоксиконцевые слияния длиной от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также вставки внутри последовательности одного или более аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым метионильным остатком. Другие варианты вставок молекулы антитела включают слияние N- или C-конца антитела с ферментом (*например*, для ADEPT) или полипептидом, который увеличивает время полужизни антитела в сыворотке.

20

Варианты Fc-области

[00208] В некоторых вариантах реализации одна или более аминокислотных модификаций могут быть введены в Fc-область антитела (*например*, полноразмерное анти-PcrV антитело или анти-PcrV Fc-слитый белок), предложенного в настоящем документе, с образованием варианта Fc-области. В некоторых вариантах реализации вариант Fc-области обладает усиленной эффекторной функцией ADCC, часто связанной со связыванием с Fc-рецепторами (FcR). В некоторых вариантах реализации вариант Fc-области имеет сниженную эффекторную функцию ADCC. Существует много примеров изменений или мутаций последовательностей Fc, которые могут изменить эффекторную функцию. *Например*, WO 00/42072 и Shields *et al. J Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001) описывают варианты антител с улучшенным или пониженным связыванием

30

с FcR. Содержание этих публикаций специально включено в настоящее описание посредством ссылки.

[00209] Антитело-зависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность (ADCC) представляет собой механизм действия терапевтических антител против опухолевых клеток. ADCC представляет собой клеточно-опосредованную иммунную защиту, при которой эффекторная клетка иммунной системы активно лизирует клетку-мишень (*например*, инфицированную клетку), чьи антигены на поверхности мембраны были связаны специфическими антителами (*например*, анти-PcrV антитело). Типичный ADCC включает активацию NK-клеток антителами. NK-клетка экспрессирует CD16, который представляет собой Fc-рецептор. Этот рецептор распознает и связывается с Fc-частью антитела, связанной с поверхностью клетки-мишени. Наиболее распространенный Fc-рецептор на поверхности NK-клетки называется CD16 или FcγRIII. Связывание Fc-рецептора с Fc-областью антитела приводит к активации NK-клеток, высвобождению цитолитических гранул и последующему апоптозу клеток-мишеней.

[00210] В некоторых вариантах реализации предложен вариант анти-PcrV антитела (такой как полноразмерный вариант анти-PcrV антитела), содержащий Fc-область, которая обладает некоторыми, но не всеми эффекторными функциями, что делает его желательным кандидатом для применений, в которых период полужизни анти-PcrV антитела *in vivo* важен, но некоторые эффекторные функции (такие как CDC и ADCC) не нужны или вредны. Анализы цитотоксичности *in vitro* и/или *in vivo* могут быть проведены для подтверждения снижения/исчерпания активности CDC и/или ADCC. Например, анализы связывания Fc-рецептора (FcR) могут быть проведены, чтобы гарантировать, что антитело не связывается с FcγR (следовательно, вероятно, не имеет ADCC-активности), но сохраняет способность связывания FcRn. Первичные клетки для опосредования ADCC, NK-клетки, экспрессируют только FcγRIII, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIII. Экспрессия FcR на гемопоэтических клетках суммирована в таблице 3 на странице 464 в Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991). Неограничивающие примеры *in vitro* анализов для оценки активности ADCC представляющей интерес молекулы описаны в патенте США № 5500362 (см., *например*, Hellstrom, I. *et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)) и Hellstrom, I *et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*

82:1499-1502 (1985); патент США № 5821337 (см. Bruggemann, M. *et al.*, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)). В качестве альтернативы можно применять способы нерадиоактивного анализа (см., например, нерадиоактивный анализ цитотоксичности АСТ1™ для проточной цитометрии (CellTechnology, Inc. Mountain View, Калифорния); и нерадиоактивный анализ цитотоксичности CytoTox 96™ (Promega, Madison), Висконсин). Подходящие эффекторные клетки для таких анализов включают мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) и клетки-естественные киллеры (NK). В качестве альтернативы или дополнительно ADCC-активность представляющей интерес молекулы может быть оценена *in vivo*, например, на животной модели, такой как раскрытая в Clynes *et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998). Анализы связывания C1q также можно проводить для подтверждения того, что антитело не способно связывать C1q и, следовательно, не имеет CDC-активности. См., например, ELISA связывания C1q и C3c в WO 2006/029879 и WO 2005/100402. Для оценки активации комплемента можно провести анализ CDC (см., например, Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M. S. *et al.*, *Blood* 101:1045-1052 (2003); и Cragg, M. S. and M. J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)). Определения связывания FcRn и клиренса/периода полужизни *in vivo* также можно проводить с применением способов, известных в данной области техники (см., например, Petkova, S. B. *et al.*, *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006)).

[00211] Антитела со сниженной эффекторной функцией включают антитела с заменой одного или более остатков Fc-области 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 (патент США № 6737056). Такие мутанты Fc включают мутанты Fc с заменами в двух или более положениях аминокислот 265, 269, 270, 297 и 327, в том числе так называемый «DANA» мутант Fc с заменой остатков 265 и 297 на аланин (патент США № 7332581).

[00212] Описаны некоторые варианты антител с улучшенным или пониженным связыванием с FcR. (См., например, патент США № 6737056; WO 2004/056312 и Shields *et al.*, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001).)

[00213] В некоторых вариантах реализации в Fc-область вносят изменения, которые приводят к измененной (*m.e.* улучшенной или ослабленной) опсонизации, например, такой, как описан в Moore *et al.*, *MAbs.* 2(2): 181–189 (2010).

[00214] В некоторых вариантах реализации предложено анти-PcrV антитело (например, полноразмерное анти-PcrV антитело), содержащее вариант Fc-области, содержащий одну или более аминокислотных замен, которые увеличивают время полужизни и/или улучшают связывание с неонатальным рецептором Fc (FcRn). Антитела с увеличенным временем полужизни и улучшенным связыванием с FcRn описаны в US 2005/0014934A1 (Hinton *et al.*). Эти антитела содержат Fc-область с одной или более заменами, которые улучшают связывание Fc-области с FcRn. Такие варианты Fc включают варианты с заменами в одном или более остатках Fc-области: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 или 434, *например*, замену остатка 434 Fc-области (патент США № 7371826).

[00215] См. также Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); патент США № 5648260; патент США № 5624821; и WO 94/29351 относительно других примеров вариантов Fc-области.

[00216] Рассматриваются анти-PcrV антитела (такие как полноразмерные анти-PcrV антитела), содержащие любой из вариантов Fc, описанных в настоящем документе, или их комбинации.

Варианты гликозилирования

[00217] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело (такое как полноразмерное анти-PcrV антитело), предложенное в настоящем документе, изменено для увеличения или уменьшения степени гликозилирования анти-PcrV антитела. Добавление или удаление сайтов гликозилирования в анти-PcrV антителе может быть удобно осуществлено путем изменения аминокислотной последовательности анти-PcrV антитела или его полипептидной части таким образом, что создается или удаляется один или более сайтов гликозилирования.

[00218] Если анти-PcrV антитело содержит Fc-область, связанный с ней углевод может быть изменен. Нативные антитела, продуцируемые клетками млекопитающих, обычно содержат разветвленный двухантенный олигосахарид, который обычно присоединен N-связью к Asn297 домена CH2 Fc-области. См., *например*, Wright *et al.*, *TIBTECH* 15:26-32 (1997). Олигосахарид может включать различные углеводы, *например*, маннозу, N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), галактозу и сиаловую кислоту, а также фукозу, присоединенную к GlcNAc в «стержне» двухантенной олигосахаридной структуры. В некоторых вариантах реализации

могут быть сделаны модификации олигосахарида в анти-PcrV антителе согласно настоящей заявке для создания вариантов анти-PcrV антитела с определенными улучшенными свойствами.

[00219] N-гликаны, присоединенные к домену CH2 Fc, являются гетерогенными.

- 5 Антитела или слитые белки Fc, генерируемые в клетках CHO, фукозилируются за счет активности фукозилтрансферазы. См. Shoji-Hosaka *et al.*, J. Biochem. 2006, 140:777- 83. Обычно небольшой процент встречающихся в природе афукозилированных IgG может быть обнаружен в сыворотке человека. N-гликозилирование Fc важно для связывания с Fc α R; а афукозилирование
- 10 N-гликана увеличивает связывающую способность Fc с Fc α R11a. Повышенное связывание Fc α R11a может усиливать ADCC, что может быть полезным в некоторых терапевтических применениях антител, в которых желательна цитотоксичность.

- [00220]** В некоторых вариантах реализации усиленная эффекторная функция
- 15 может быть вредной, когда Fc-опосредованная цитотоксичность нежелательна. В некоторых вариантах реализации Fc-фрагмент или домен CH2 не гликозилированы. В некоторых вариантах реализации сайт N-гликозилирования в домене CH2 мутирован для предотвращения гликозилирования.

- [00221]** В некоторых вариантах реализации предложены варианты
- 20 анти-PcrV-антитела (например, полноразмерное анти-PcrV-антитело), содержащие Fc-область, где углеводная структура, присоединенная к Fc-области, имеет уменьшенное количество фукозы или не содержит фукозы, что может улучшить функцию ADCC. В частности, в настоящем документе рассматриваются анти-PcrV антитела, которые имеют пониженное содержание фукозы по
- 25 сравнению с количеством фукозы в одном и том же анти-PcrV антителе, продуцируемом в клетке CHO дикого типа. То есть они характеризуются более низким количеством фукозы, чем если бы они продуцировались нативными клетками CHO (*например*, клеткой CHO, которая продуцирует нативный паттерн гликозилирования, например, клеткой CHO, содержащей нативный ген FUT8). В
- 30 некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело представляет собой антитело, в котором менее примерно 50%, 40%, 30%, 20%, 10% или 5% N-связанных гликанов содержат фукозу. Например, количество фукозы в таком анти-PcrV антителе может составлять от 1% до 80%, от 1% до 65%, от 5% до 65%

или от 20% до 40%. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело представляет собой антитело, в котором ни один из N-связанных гликанов не содержит фукозу, т.е. анти-PcrV антитело полностью не содержит фукозы, или не содержит фукозы, или является афукозилированным. Количество фукозы определяют путем расчета среднего количества фукозы в сахарной цепи в положении Asn297 относительно суммы всех гликоструктур, присоединенных к Asn 297 (например, сложных, гибридных структур и структур с высоким содержанием маннозы), измеренных с помощью масс-спектрометрии MALDI-TOF, как описано, например, в WO 2008/077546. Asn297 относится к остатку аспарагина, расположенному примерно в положении 297 в Fc-области (нумерация ЕС остатков Fc-области); однако Asn297 также может быть расположен примерно на ± 3 аминокислоты выше или ниже положения 297, то есть между положениями 294 и 300, из-за незначительных вариаций последовательности в антителах. Такие варианты фукозилирования могут иметь улучшенную функцию ADCC. См., например, публикации патентов США № US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Примеры публикаций, относящихся к «дефукозилированным» или «дефицитным по фукозе» вариантам антител, включают: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki *et al. J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki *et al. Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004). Примеры клеточных линий, способных продуцировать дефукозилированные антитела, включают клетки Lec13 CHO с дефицитом фукозилирования белков (Ripka *et al. Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); US Pat Appl No US 2003/0157108 A1, Presta, L; и WO 2004/056312 A1, Adams *et al.*, особенно для Примера 11), и клеточные линии с нокаутированными генами, такими как ген α -1,6-фукозилтрансферазы, FUT8, клетки CHO с нокаутированными генами (см., например, Yamane-Ohnuki *et al. Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004); Kanda, Y. *et al., Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006); и WO2003/085107).

[00222] Также предложены варианты анти-PcrV антитела (например, полноразмерного анти-PcrV антитела) с разделенными пополам олигосахаридами, например, в которых двухантенный олигосахарид, присоединенный к Fc-области

анти-PcrV антитела, разделен пополам посредством GlcNAc. Такие варианты анти-PcrV антитела (такие как полноразмерные анти-PcrV антитела) могут иметь пониженное фукозилирование и/или улучшенную функцию ADCC. Примеры таких вариантов антител описаны, *например*, в WO 2003/011878 (Jean-Mairet *et al.*);
5 патенте США № 6602684 (Umana *et al.*); US 2005/0123546 (Umana *et al.*), и Ferrara *et al.*, *Biotechnology and Bioengineering*, 93(5): 851-861 (2006). Также предусмотрены варианты анти-PcrV антитела (например, полноразмерного анти-PcrV антитела) с по меньшей мере одним остатком галактозы в олигосахаридах, присоединенных к Fc-области. Такие варианты анти-PcrV антител могут иметь улучшенную функцию
10 CDC. Такие варианты антител описаны, *например*, в WO 1997/30087 (Patel *et al.*); WO 1998/58964 (Raju, S.); и WO 1999/22764 (Raju, S.).

[00223] В некоторых вариантах реализации варианты анти-PcrV антитела (такие как полноразмерные анти-PcrV антитела), содержащие Fc-область, способны связываться с FcγRIII. В некоторых вариантах реализации варианты анти-PcrV
15 антитела (например, полноразмерное анти-PcrV антитело), содержащие Fc-область, обладают активностью ADCC в присутствии эффекторных клеток человека (*например*, Т-клеток) или имеют повышенную активность ADCC в присутствии эффекторных клеток человека по сравнению с таким же в остальном анти-PcrV антителом (таким как полноразмерное анти-PcrV антитело),
20 содержащим Fc-область человека дикого типа.

Варианты, модифицированные цистеином

[00224] В некоторых вариантах реализации может быть необходимо создание сконструированных на основе цистеина анти-PcrV антител (таких как полноразмерные анти-PcrV антитела), в которых один или более аминокислотных
25 остатков заменены цистеиновыми остатками. В некоторых вариантах реализации замещенные остатки встречаются на доступных участках анти-PcrV антитела. Замещая эти остатки цистеином, реакционноспособные тиоловые группы располагаются в доступных местах анти-PcrV-антитела и могут быть использованы для конъюгации анти-PcrV-антитела с другими фрагментами,
30 такими как фрагменты лекарственного средства или фрагменты линкер-лекарство, для создания анти-PcrV иммуноконъюгата, как описано далее в настоящем документе. Анти-PcrV антитела с добавлением цистеина (*например*,

полноразмерные анти-PcrV антитела) можно получить, как описано, *например*, в патенте США № 7521541.

Производные

[00225] В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело (такое как полноразмерное анти-PcrV антитело), предложенное в настоящем документе, может быть дополнительно модифицировано, чтобы содержать дополнительные небелковые фрагменты, которые известны в данной области и легко доступны. Фрагменты, подходящие для дериватизации анти-PcrV антител, включают водорастворимые полимеры, но не ограничиваются ими. Неограничивающие примеры водорастворимых полимеров включают, но не ограничиваются ими, полиэтиленгликоль (ПЭГ), сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля, карбоксиметилцеллюлозу, декстран, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, поли-1,3-диоксолан, поли-1,3,6-триоксан, сополимер этилена/малеинового ангидрида, полиаминокислоты (гомополимеры или статистические сополимеры) и декстран или поли(н-винилпирролидон)полиэтиленгликоль, гомополимеры пропропиленгликоля, сополимеры полипропиленоксида/этиленоксида, полиоксиэтилированные полиолы (*например*, глицерин), поливиниловый спирт и их смеси. Полиэтиленгликольпропионовый альдегид может иметь преимущества в производстве из-за его стабильности в воде. Полимер может иметь любую молекулярную массу и может быть разветвленным или неразветвленным. Количество полимеров, присоединенных к анти-PcrV антителу, может варьироваться, и если присоединено более одного полимера, они могут быть одинаковыми или разными молекулами. Как правило, количество и/или тип полимеров, используемых для дериватизации, можно определить на основе соображений, включая, но не ограничиваясь ими, конкретные свойства или функции анти-PcrV антитела, которые необходимо улучшить, а также будет ли производное анти-PcrV антитело использоваться в терапии при определенных условиях и т.д.

[00226] В некоторых вариантах реализации предложены конъюгаты анти-PcrV антитела (*например*, полноразмерное анти-PcrV антитело) и небелкового фрагмента, которые можно избирательно нагревать под воздействием излучения. В некоторых вариантах реализации небелковый фрагмент представляет собой

углеродную нанотрубку (Kam *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005)). Излучение может иметь любую длину волны и включает, помимо прочего, длины волн, которые не повреждают обычные клетки, но которые нагревают небелковый фрагмент до температуры, при которой клетки, расположенные ближе к анти-PcrV антитело-небелковому фрагменту, погибают.

Фармацевтические композиции

[00227] Также в настоящем документе предложены композиции (такие как фармацевтические композиции, также называемые в настоящем документе составами), содержащие любое из анти-PcrV антител (например, полноразмерное анти-PcrV антитело), нуклеиновые кислоты, кодирующие антитела, векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие антитела, или клетки-хозяева, содержащие нуклеиновые кислоты или векторы, описанные в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации предложена фармацевтическая композиция, содержащая любое из описанных в настоящем документе анти-PcrV антител и фармацевтически приемлемый носитель.

[00228] Подходящие составы анти-PcrV антител получают путем смешивания анти-PcrV антител, имеющих желаемую степень чистоты, с необязательными фармацевтически приемлемыми носителями, вспомогательными веществами или стабилизаторами (*Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980), в виде лиофилизированных составов или водных растворов. Приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают буферы, такие как фосфатный, цитратный и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония, хлорид гексаметония, хлорид бензалкония, хлорид бензетония, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол); низкомолекулярные (менее примерно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза,

маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (*например*, комплексы Zn-белок); и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (PEG). Примеры составов описаны в WO 98/56418, непосредственно включенной в настоящий документ посредством ссылки. 5
Лиофилизированные составы, адаптированные для подкожного введения, описаны в WO 97/04801. Такие лиофилизированные составы могут быть восстановлены подходящим разбавителем до высокой концентрации белка, и восстановленный состав может быть введен подкожно индивидууму, 10 подлежащему лечению согласно настоящему изобретению. Липофектины или липосомы могут быть использованы для доставки анти-PcrV-антител согласно настоящей заявке в клетки.

[00229] Состав согласно настоящему документу может также содержать одно или более активных соединений в дополнение к анти-PcrV антителу (*например*, 15 полноразмерное анти-PcrV антитело), если это необходимо для лечения конкретного показания, предпочтительно соединения с дополнительной активностью, которые не оказывают отрицательное влияние друг на друга. Например, может быть желательным дополнительно обеспечить противоопухолевый агент, агент, ингибирующий рост, цитотоксический агент или 20 химиотерапевтический агент в дополнение к анти-PcrV антителу. Такие молекулы подходящим образом присутствуют в комбинации в количествах, которые эффективны для намеченной цели. Эффективное количество таких других агентов зависит от количества анти-PcrV антитела, присутствующего в составе, типа заболевания или расстройства или лечения и других факторов, обсужденных 25 выше. Они обычно используются в тех же дозировках и путями введения, как описано в настоящем документе, или примерно от 1 до 99% ранее использовавшихся дозировок.

[00230] Анти-PcrV антитела (*например*, полноразмерные анти-PcrV антитела) также могут быть заключены в микрокапсулы, приготовленные, *например*, 30 методиками коацервации или межфазной полимеризации, *например*, гидроксиметилцеллюлозные или желатиновые микрокапсулы и поли-(метилметацилат) микрокапсулы, соответственно, в коллоидных системах доставки лекарств (*например*, липосомы, альбуминовые микросферы,

микроэмульсии, наночастицы и микрокапсулы) или в макроэмульсиях. Могут быть приготовлены препараты пролонгированного действия.

[00231] Могут быть приготовлены препараты с замедленным высвобождением анти-PcrV антител (например, полноразмерные анти-PcrV антитела). Подходящие
5 примеры препаратов с замедленным высвобождением включают полупроницаемые матрицы из твердых гидрофобных полимеров, содержащие антитело (или его фрагмент), причем матрицы представляют собой формованные изделия, *например*, пленки или микрокапсулы. Примеры матриц с замедленным высвобождением включают сложные полиэфиры, гидрогели (например,
10 поли(2-гидроксиэтилметакрилат) или поли(виниловый спирт)), полилактиды (патент США № 3773919), сополимеры L-глутаминовой кислоты и этил-L-глутамата, неразлагаемый этиленвинилацетат, разлагаемые сополимеры молочной и гликолевой кислот, такие как LUPRON DEPOT™ (микросферы для инъекций, состоящие из сополимера молочной и гликолевой кислот и ацетата лейпролида), и поли-D(-)-3-гидроксимасляную кислоту. В то время как полимеры,
15 такие как этилен-винилацетат и молочно-гликолевая кислота, обеспечивают высвобождение молекул в течение более 100 дней, некоторые гидрогели высвобождают белки в течение более коротких периодов времени. Когда инкапсулированные антитела остаются в организме длительное время, они могут денатурировать или агрегировать в результате воздействия влаги при 37 °C, что
20 приводит к потере биологической активности и возможному изменению иммуногенности. Для стабилизации анти-PcrV-антител могут быть разработаны рациональные стратегии в зависимости от задействованного механизма. Например, если обнаружено, что механизм агрегации представляет собой
25 образование межмолекулярной связи S-S посредством тиодисульфидного обмена, стабилизация может быть достигнута путем модификации сульфгидрильных остатков, лиофилизации из кислых растворов, контроля содержания влаги, использования соответствующих добавок и разработки конкретных полимерных матричных композиций.

30 **[00232]** В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело (такое как полноразмерное анти-PcrV антитело) готовят в буфере, содержащем цитрат, NaCl, ацетат, сукцинат, глицин, полисорбат 80 (Tween 80) или любую комбинацию вышеперечисленного. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело

готовят в буфере, содержащем от примерно 100 мМ до примерно 150 мМ глицина. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело готовят в буфере, содержащем от примерно 50 мМ до примерно 100 мМ NaCl. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело готовят в буфере, содержащем от примерно 10 мМ до примерно 50 мМ ацетата. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело готовят в буфере, содержащем от примерно 10 мМ до примерно 50 мМ сукцината. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV-антитело готовят в буфере, содержащем от примерно 0,005% до примерно 0,02% полисорбата 80. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV-антитело готовят в буфере, имеющем pH от примерно 5,1 до 5,6. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело готовят в буфере, содержащем 10 мМ цитрата, 100 мМ NaCl, 100 мМ глицина и 0,01% полисорбата 80, где pH композиции составляет 5,5.

[00233] Составы, используемые для введения *in vivo*, должны быть стерильными. Это легко осуществить, например, путем фильтрации через стерильные фильтрационные мембраны.

Способы лечения или профилактики с применением анти-PcrV антител

[00234] В некоторых аспектах предложен способ лечения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей любое из анти-PcrV антител, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации способ лечения инфекции *Pseudomonas* дополнительно оказывает терапевтическое или профилактическое воздействие на заболевания и/или состояния, связанные с инфекцией *Pseudomonas*. В некоторых аспектах предложен способ предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей любое из анти-PcrV антител, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации описано применение анти-PcrV-антитела в соответствии с любым из описанных выше анти-PcrV антител или фармацевтической композиции, содержащей анти-PcrV-антитело в соответствии с любой из фармацевтических композиций, описанных выше, для получения лекарственного средства для лечения заболевания или состояния.

[00235] Заболевания и/или состояния, связанные с инфекцией *Pseudomonas*, включают, но не ограничиваются ими, лихорадку, озноб, утомляемость, боль в мышцах и суставах, отек суставов, головную боль, диарею, кожную сыпь, гной в ранах, бактериемию, острую пневмонию, внутрибрюшинную инфекцию. Другие
5 примеры заболеваний включают, но не ограничиваются ими, инфекции дыхательных путей, бактериемию, септический шок, гнойный артрит, энтерит, инфекции кожи и мягких тканей (такие как инфекции ожоговых ран), инфекции мочевыводящих путей, кишечные инфекции, язвенный кератит, хронический гнойный средний отит, мастоидит, синусит и эндокардит. В некоторых вариантах
10 реализации способ лечения или профилактики инфекции *Pseudomonas* снижает смертность от инфекции *Pseudomonas*.

[00236] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV
15 антитело. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело специфически связывается с линейным эпитопом в *PcrV Pseudomonas*. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело, описанное в настоящем документе, специфически связывается с нелинейным эпитопом в *PcrV Pseudomonas*. В
20 некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере
любое из 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных остатков, выбранных из группы Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 *PcrV Pseudomonas*, согласно SEQ ID NO:
25 71.

[00237] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV
антитело, причем анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий HC-CDR1,
30 содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-8, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 9-14, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 15-31; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную

последовательность любой из SEQ ID NO: 32-33, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 35-38. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-8, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 9-14, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 15-31; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 32-33, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 35-38. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-8, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 9-14, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 15-31; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 32-33, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 35-38.

[00238] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 48-64, и V_L содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-70. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции

Pseudomonas у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 48-64, и V_L содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-70. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 48-64, и V_L содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-70.

[00239] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00240] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00241] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 48; и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65.

[00242] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV

антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00243] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00244] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV

антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 49; и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65.

[00245] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36.

5 **[00246]** В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66.

10 **[00247]** В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 50, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 66.

[00248] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

[00249] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67.

[00250] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 51; и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах реализации способ предотвращает инфекцию *Pseudomonas* у индивидуума.

[00251] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и

антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00252] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00253] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности

последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 52; и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65.

5 **[00254]** В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID
10 NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID
15 NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную
20 последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую
25 аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00255] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H ,
30 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного

количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

5 **[00256]** В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную
10 последовательность SEQ ID NO: 11, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную
15 последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 53; и V_L ,
20 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65.

[00257] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение
25 индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21;
30 и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или

предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00258] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00259] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до 5

аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54; и V_L ,
5 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65.

[00260] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение
10 индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22;
15 и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение
20 индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную
25 последовательность SEQ ID NO: 22; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

[00261] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или
30 предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, и V_L ,

содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67.

[00262] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55; и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67.

[00263] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность

SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

[00264] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67.

[00265] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело
5 содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56; и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с
10 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67.

[00266] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H ,
15 содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ
20 ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, LC-CDR2, содержащую
30 аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00267] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение

индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68.

[00268] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 57; и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68.

[00269] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID

NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

[00270] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69.

[00271] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58; и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69.

[00272] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

5 **[00273]** В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции

10 *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

15 **[00274]** В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную

20 последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную

25 последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59; и V_L ,

30 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65.

[00275] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00276] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00277] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело, предложенное в настоящем документе, содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60; и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65.

[00278] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и

антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00279] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00280] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности

последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 61; и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65.

5 **[00281]** В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID
10 NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID
15 NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную
20 последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую
25 аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

[00282] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H,
30 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного

количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67.

5 **[00283]** В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную
10 последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную
15 последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 62; и V_L ,
20 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67.

[00284] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение
25 индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30;
30 и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или

предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

[00285] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[00286] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до 5

аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 63; и V_L ,
5 содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65.

[00287] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение
10 индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31;
15 и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение
20 индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную
25 последовательность SEQ ID NO: 31; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

[00288] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или
30 предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, и V_L ,

содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67.

[00289] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64; и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67.

[00290] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность

SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38.

[00291] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело конкурирует с антителом, содержащим: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70. В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее: V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70.

[00292] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, содержащее: V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, или его вариант, содержащий до 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело
5 содержит V_H, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 62; и V_L, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70, или ее вариант, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с
10 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70.

[00293] В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества композиции, содержащей анти-PcrV антитело, причем анти-PcrV антитело, описанное в настоящем документе,
15 специфически связывается с эпитопом на *PcrV Pseudomonas*, причем эпитоп содержит любое из 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных остатков, выбранных из группы Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 *PcrV Pseudomonas*, согласно SEQ ID No: 71. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело в композиции конкурирует с антителом, которое связывается с любым из 1, 2, 3, 4, 5,
20 или 6 аминокислотных остатков, выбранных из группы Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 *PcrV Pseudomonas*, согласно SEQ ID No: 71.

[00294] В некоторых вариантах реализации согласно любому из способов лечения или профилактики, описанных в настоящем документе, анти-PcrV антитело содержит константную область тяжелой цепи антитела и константную область
25 легкой цепи антитела. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG2. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG3. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG4. В некоторых
30 вариантах реализации IgG представляет собой человеческий IgG. В некоторых вариантах реализации константная область тяжелой цепи содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 73. В некоторых вариантах

реализации константная область тяжелой цепи содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 74. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV содержит константную область легкой лямбда-цепи. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит константную область легкой каппа-цепи. В некоторых вариантах реализации константная область легкой цепи содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72. В некоторых вариантах реализации анти-PcrV антитело содержит переменный домен тяжелой цепи антитела и переменный домен легкой цепи антитела.

10 **[00295]** В некоторых вариантах реализации согласно любому из способов лечения или профилактики, описанных в настоящем документе, способ дополнительно обеспечивает терапевтический или профилактический эффект в отношении заболеваний и/или состояний, связанных с инфекцией *Pseudomonas*. В некоторых вариантах реализации способ предотвращает инфекцию *Pseudomonas* у
15 индивидуума.

[00296] В некоторых вариантах реализации индивидуумом является млекопитающее (*например*, человек, примат, не являющийся человеком, крыса, мышь, корова, лошадь, свинья, овца, коза, собака, кошка и т.д.). В некоторых вариантах реализации индивидуумом является человек. В некоторых вариантах реализации индивидуум является клиническим пациентом, добровольцем
20 клинического исследования, экспериментальным животным *и т. д.* В некоторых вариантах реализации индивидуум моложе примерно 60 лет (включая, например, моложе любого из 50, 40, 30, 25, 20, 15 или 10 лет). В некоторых вариантах реализации индивидуум старше 60 лет (включая, например, старше 70, 80, 90 или
25 100 лет).

[00297] В некоторых вариантах реализации индивидуум имеет один или более факторов риска, связанных с инфекцией *P. aeruginosa*. Например, в некоторых вариантах реализации у индивидуума нарушен или поврежден слизистый слой кожи. В некоторых вариантах реализации индивидуум имеет одну или более
30 ожоговых ран. В некоторых вариантах реализации индивидуум имеет одну или более хирургических ран. В некоторых вариантах реализации индивидуум имеет кожное заболевание. В некоторых вариантах реализации индивидууму вводят инородное тело, такое как, помимо прочего, аппарат искусственной вентиляции

легких или катетер. В некоторых вариантах реализации у индивидуума диагностированы иммунодефицитные заболевания или они генетически предрасположены к ним, включая, помимо прочего, ВИЧ-инфекцию, СПИД и/или дефицит нейтрофилов. В некоторых вариантах реализации индивидуум получил одну или более форм химиотерапии. В некоторых вариантах реализации индивидуум получил одну или более форм лечения глюкокортикоидами. В некоторых вариантах реализации индивидуум получил одну или более форм химиотерапии. В некоторых вариантах реализации у индивидуума диагностирован или он генетически предрасположен к раку, диабету и/или хроническим структурным заболеваниям легких (таким как муковисцидоз или ХОБЛ). В некоторых вариантах реализации у индивидуума диагностирован или он генетически предрасположен к дисбалансу флоры в пищеварительной системе и/или в других органах. В некоторых вариантах реализации индивидуум имеет один или более факторов риска, связанных с одним или более заболеваниями или нарушениями, описанными в настоящем документе.

[00298] В настоящей заявке в некоторых вариантах реализации предложен способ доставки анти-PcrV антитела (такого как любое из анти-PcrV антител, описанных в настоящем документе, например, выделенного анти-PcrV антитела) в клетку, инфицированную патогеном, у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму композиции, содержащей анти-PcrV антитело.

[00299] В некоторых вариантах реализации согласно любому из способов, описанных в настоящем документе, способ дополнительно включает введение одного или более дополнительных терапевтических средств. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере одно из терапевтических средств является антибиотиком. В некоторых вариантах реализации антибиотик представляет собой пенициллин, цефалоспорин, карбапенем, фторхинолон, аминогликозид, монобактам, полимиксин, комбинацию антибиотиков, содержащую ингибитор β -лактамазы, или любые их комбинации. В некоторых вариантах реализации антибиотиком является цефепим, цефтазидим, цефпиром, имипенем, меропенем, тикарциллин, пиперациллин, азлоциллин, карбенициллин, мезлоциллин, азтреонам, тобрамицин, гентамицин, амикацин, цiproфлоксацин, левофлоксацин, цефоперазон-сульбактам, пиперациллин-тазобактам, фосфомицин или любые их комбинации. В некоторых вариантах реализации

антибиотик представляет собой один или более из имипенема, тобрамицина, ципрофлоксацина, меропенема или азтреонама. В некоторых вариантах реализации антибиотик представляет собой один или более из гентамицина, ампициллина или канамицина.

5 **[00300]** Многие способы диагностики инфекционных агентов, демонстрирующих экспрессию PcrV, и клиническое описание этих заболеваний известны в данной области техники. Такие способы включают, но не ограничиваются ими, *например*, иммуногистохимию, ПЦР и флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH).

10 **[00301]** В некоторых вариантах реализации анти-PcrV-антитела (*например*, полноразмерные анти-PcrV-антитела) и/или композиции согласно настоящей заявке вводят в комбинации со вторым, третьим или четвертым агентом (включая, *например*, антибиотик) для лечения или профилактики заболеваний или расстройств, связанных с патогенами, экспрессирующими PcrV.

15 **Дозирование и способы введения анти-PCRВ антител**

[00302] Доза композиций анти-PcrV антитела (таких как выделенное анти-PcrV антитело), вводимых индивидууму (*например*, человеку), может варьироваться в зависимости от конкретной композиции, способа введения и типа заболевания, которое лечат. В некоторых вариантах реализации количество композиции (такой

20 как композиция, содержащая выделенное анти-PcrV антитело) эффективно для получения объективного ответа (такого как частичный ответ или полный ответ) при лечении или профилактике инфекций *Pseudomonas*. В некоторых вариантах реализации количество композиции анти-PcrV антитела достаточно для полного ответа у индивидуума. В некоторых вариантах реализации количество композиции

25 анти-PcrV антитела достаточно, чтобы вызвать частичный ответ у индивидуума. В некоторых вариантах реализации количество вводимой композиции анти-PcrV антитела (*например*, при отдельном введении) достаточно для получения общей частоты ответов более чем примерно на 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45 %, 50%, 55%, 60%, 64%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% или 90% среди популяции

30 индивидуумов, получавших композицию анти-PcrV антитела. Ответы индивидуума на лечение или предотвращение описанными в настоящем документе способами можно определить, *например*, на основе обнаружения *Pseudomonas* такими способами, как окрашивание по Граму или другие фенотипические тесты.

- 5 **[00303]** В некоторых вариантах реализации количество композиции (такой как композиция, содержащая выделенное анти-PcrV антитело) достаточно для продления жизни индивидуума без прогрессирования. В некоторых вариантах реализации количество композиции достаточно для продления общей выживаемости индивидуума. В некоторых вариантах реализации количество композиции (например, при одновременном введении) достаточно для получения клинической пользы более чем примерно на 50%, 60%, 70% или 77% среди популяции индивидуумов, получавших лечение композицией анти-PcrV антитела.
- 10 **[00304]** В некоторых вариантах реализации количество композиции (такой как композиция, содержащая выделенное анти-PcrV антитело), отдельно или в комбинации со вторым, третьим и/или четвертым агентом, представляет собой количество, достаточное для снижения количества нагрузки *Pseudomonas* на орган по меньшей мере примерно на любое из 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 100% по сравнению с соответствующей нагрузкой на орган у
- 15 того же субъекта до лечения или по сравнению с соответствующей активностью у других субъектов, не получавших лечение. Для измерения величины этого эффекта можно использовать стандартные способы, такие как анализы *in vitro* с очищенным ферментом, клеточные анализы, модели животных или испытания на людях.
- 20 **[00305]** В некоторых вариантах реализации количество анти-PcrV антитела (такого как полноразмерное анти-PcrV антитело) в композиции ниже уровня, вызывающего токсикологический эффект (т.е. эффект выше клинически приемлемого уровня токсичности) или находится на уровне, при котором потенциальный побочный эффект можно контролировать или переносить, когда композицию вводят
- 25 индивидууму.
- [00306]** В некоторых вариантах реализации количество композиции близко к максимально переносимой дозе (MTD) композиции при соблюдении того же режима дозирования. В некоторых вариантах реализации количество композиции составляет более чем примерно 80%, 90%, 95% или 98% MTD.
- 30 **[00307]** В некоторых вариантах реализации количество анти-PcrV-антитела (такого как полноразмерное анти-PcrV-антитело) в композиции находится в диапазоне от примерно 0,001 мкг до примерно 1000 мкг.

[00308] В некоторых вариантах реализации композиция или способ дополнительно содержат один или более антибиотиков. В некоторых вариантах реализации количество антибиотика (такого как имипенем, тобрамицин, ципрофлоксацин, меропенем, азтреонам, тикарциллин, пиперациллин, азлоциллин, карбенициллин, мезлоциллин, гентамицин или амикацин) в композиции включено в диапазоне примерно от 0,001 мкг до примерно 1000 мкг.

[00309] В некоторых вариантах реализации любого из вышеуказанных аспектов эффективное количество анти-PcrV антитела (такого как полноразмерное анти-PcrV антитело) в композиции находится в диапазоне от примерно 0,1 мкг/кг до примерно 100 мг/кг общей массы тела.

[00310] В некоторых вариантах реализации любого из вышеуказанных аспектов эффективное количество антибиотика (такого как имипенем, тобрамицин, ципрофлоксацин, меропенем, азтреонам, тикарциллин, пиперациллин, азлоциллин, карбенициллин, мезлоциллин, гентамицин или амикацин) в композиции составляет в диапазоне примерно от 0,1 мкг/кг до примерно 100 мг/кг общей массы тела.

[00311] Композиции анти-PcrV антитела можно вводить индивидууму (например, человеку) различными путями, включая, например, внутривенный, интраартериальный, внутрибрюшинный, внутрилегочный, пероральный, ингаляционный, внутривезикулярный, внутримышечный, внутритрахеальный, подкожный, интраокулярный, интратекальный, трансмукозальный и чрескожный. В некоторых вариантах реализации можно применять состав композиции с пролонгированным высвобождением. В некоторых вариантах реализации состав вводят внутривенно. В некоторых вариантах реализации композицию вводят интрапортально. В некоторых вариантах реализации композицию вводят интраартериально. В некоторых вариантах реализации композицию вводят внутрибрюшинно. В некоторых вариантах реализации композицию вводят внутривенно. В некоторых вариантах реализации композицию вводят путем инфузии в печеночную артерию. В некоторых вариантах реализации введение осуществляют в место инъекции, удаленное от первичного очага заболевания.

Готовые изделия и наборы

[00312] В некоторых вариантах реализации предложено готовое изделие, содержащее материалы, подходящие для лечения или предотвращения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума, или для доставки анти-PcrV антитела (например, 5 полноразмерного анти-PcrV антитела) к клетке, прикрепленной к патогену, экспрессирующему PcrV. Готовое изделие может содержать контейнер и этикетку или листок-вкладыш на контейнере или связанный с ним. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы и т.д. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. Как правило, 10 контейнер содержит композицию, которая эффективна для лечения заболевания или расстройства, описанного в настоящем документе, и может иметь стерильный порт доступа (например, контейнер может представлять собой пакет для внутривенного раствора или флакон с пробкой, прокалываемой иглой для подкожных инъекций). По меньшей мере один активный агент в композиции 15 представляет собой анти-PcrV антитело согласно настоящей заявке. На этикетке или листке-вкладыше указано, что композицию применяют для лечения конкретного состояния. Этикетка или листок-вкладыш будут дополнительно содержать инструкции по введению пациенту композиции анти-PcrV антитела. Предусматриваются также готовые изделия и наборы, включающие описанные в 20 настоящем документе комбинированные способы лечения.

[00313] Листок-вкладыш относится к инструкциям, обычно включаемым в коммерческие упаковки терапевтических продуктов, которые содержат информацию о показаниях, применении, дозировке, введении, противопоказаниях и/или предупреждениях, касающихся применения таких терапевтических 25 продуктов. В некоторых вариантах реализации на листке-вкладыше указано, что композицию применяют для лечения бактериальных инфекций. В некоторых вариантах реализации на листке-вкладыше указано, что композицию применяют для лечения инфекции *Pseudomonas*.

[00314] Кроме того, изделие может дополнительно содержать второй контейнер, 30 содержащий фармацевтически приемлемый буфер, такой как бактериостатическая вода для инъекций (BWFI), фосфатно-солевой буфер, раствор Рингера и раствор декстрозы. Кроме того, он может включать другие

материалы, желательные с коммерческой точки зрения и с точки зрения пользователя, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и шприцы.

[00315] Также предложены наборы, которые можно применять для различных целей, *например*, для лечения или профилактики инфекции *Pseudomonas* у индивидуума или для доставки анти-PcrV-антитела (такого как полноразмерное анти-PcrV-антитело) в клетку, прикрепленную к патогену, экспрессирующему PcrV, 5
необязательно в комбинации с готовыми изделиями. Наборы согласно настоящей заявке включают один или более контейнеров, содержащих композицию анти-PcrV антитела (или стандартную лекарственную форму и/или готовое изделие), а в 10
некоторых вариантах реализации дополнительно содержится другой агент (такой как агенты, описанные в настоящем документе) и/или инструкции по применению в соответствии с любым из способов, описанных в настоящем документе. Набор может дополнительно содержать описание выбора индивидуумов, подходящих для лечения. Инструкции, поставляемые в наборе для применения, обычно 15
представляют собой письменные инструкции на этикетке или вкладыше (*например*, лист бумаги, включенный в комплект), но машиночитаемые инструкции (*например*, инструкции на магнитном или оптическом диске) также приемлемы.

[00316] Например, в некоторых вариантах реализации набор содержит композицию, содержащую анти-PcrV-антитело (такое как полноразмерное анти-PcrV-антитело). В некоторых вариантах реализации набор содержит а) 20
композицию, содержащую любое из анти-PcrV антител, описанных в настоящем документе, и b) эффективное количество по меньшей мере одного другого агента, при этом другой агент усиливает эффект (*например*, лечебный эффект, детектирующий эффект) анти-PcrV антитела. В некоторых вариантах реализации 25
набор содержит а) композицию, содержащую любое из описанных в настоящем документе анти-PcrV антител, и b) инструкции по введению композиции анти-PcrV антител индивидууму для лечения инфекции *Pseudomonas* у индивидуума. В некоторых вариантах реализации набор включает а) композицию, содержащую любое из анти-PcrV антител, описанных в настоящем документе, b) эффективное 30
количество по меньшей мере одного другого агента, причем этот другой агент усиливает эффект (*например*, лечебный эффект, детектирующий эффект) анти-PcrV антител, и с) инструкции по введению композиции анти-PcrV антител и другого агента(ов) индивидууму для лечения инфекции *Pseudomonas* у

индивидуума. Анти-PcrV антитело и другие агенты могут находиться в отдельных контейнерах или в одном контейнере. Например, набор может включать одну отдельную композицию или две или более композиций, где одна композиция содержит анти-PcrV антитело, а другая композиция содержит другой агент.

- 5 **[00317]** В некоторых вариантах реализации набор содержит нуклеиновую кислоту (или набор нуклеиновых кислот), кодирующую анти-PcrV-антитело (такое как полноразмерное анти-PcrV-антитело). В некоторых вариантах реализации набор содержит а) нуклеиновую кислоту (или набор нуклеиновых кислот), кодирующую анти-PcrV антитело, и б) клетку-хозяин для экспрессии нуклеиновой кислоты (или
- 10 набора нуклеиновых кислот). В некоторых вариантах реализации набор содержит а) нуклеиновую кислоту (или набор нуклеиновых кислот), кодирующую анти-PcrV антитело, и б) инструкции для i) экспрессии анти-PcrV антитела в клетке-хозяине, ii) приготовления композиции, содержащей анти-PcrV антитело, и iii) введения композиции, содержащей анти-PcrV антитело, индивидууму для лечения или
- 15 профилактики инфекции *Pseudomonas* у индивидуума. В некоторых вариантах реализации набор содержит а) нуклеиновую кислоту (или набор нуклеиновых кислот), кодирующую анти-PcrV антитело, б) клетку-хозяин для экспрессии нуклеиновой кислоты (или набора нуклеиновых кислот) и с) инструкции для i)
- 20 экспрессии анти-PcrV антитела в клетке-хозяине, ii) приготовления композиции, содержащей анти-PcrV антитело, и iii) введения композиции, содержащей анти-PcrV антитело, индивидууму для лечения или профилактики инфекции *Pseudomonas* у индивидуума.

- [00318]** Наборы согласно заявке находятся в подходящей упаковке. Подходящая упаковка включает, но не ограничивается ими, флаконы, бутылки, банки, гибкую
- 25 упаковку (например, герметичные майларовые или пластиковые пакеты) и т.п. Комплекты могут дополнительно обеспечивать дополнительные компоненты, такие как буферы и интерпретационная информация. Таким образом, в настоящей заявке также предложены готовые изделия, которые включают флаконы (такие как запечатанные флаконы), бутылки, банки, гибкую упаковку и т.п.

- 30 **[00319]** Инструкции, относящиеся к применению композиций анти-PcrV антитела, обычно включают информацию о дозировке, графике дозирования и способе введения для предполагаемого лечения. Контейнеры могут представлять собой стандартные дозы, объемные упаковки (например, многодозовые упаковки) или

субъединичные дозы. Например, могут быть предложены наборы, которые содержат достаточные дозы анти-PcrV антитела (такого как полноразмерное анти-PcrV антитело), как описано в настоящем документе, для обеспечения эффективного лечения индивидуума в течение длительного периода, например, в течение недели, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 6 недель, 8 недель, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев или более. Наборы могут также включать множественные единичные дозы анти-PcrV антитела и фармацевтических композиций и инструкции по применению и расфасованы в количествах, достаточных для хранения и применения в аптеках, например, больничных аптеках и рецептурных аптеках.

[00320] Специалистам в данной области техники будет понятно, что в пределах объема и сущности настоящей заявки возможны несколько вариантов реализации. Настоящая заявка далее будет описана более подробно со ссылкой на следующие неограничивающие примеры. Следующие примеры дополнительно иллюстрируют заявку, но, конечно, их не следует рассматривать как ограничивающие каким-либо образом ее объем.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Получение рекомбинантных PcrV *Pseudomonas* и отбор анти -PcrV scFv антител

Получение рекомбинантных PcrV Pseudomonas

[00321] Синтезировали полноразмерную последовательность PcrV (PAO1) (Generay, Шанхай) и субклонировали в вектор экспрессии pET с использованием сайтов распознавания ферментами рестрикции NdeI и BamHI. Для мечения PcrV использовали His-метку или другие традиционно используемые метки. Были созданы векторы экспрессии pET-6his-PcrV, pET-6his-Avi-PcrV. В этих конструкциях «his» означает His-метку, а «Avi» — авидиновую метку. Экспрессию и очистку рекомбинантного PcrV, включая pET-6his-PcrV, pET-6His-Avi-PcrV, проводили в соответствии с протоколом производителя. Вкратце, клетки *E. Coli* трансформировали векторами экспрессии, клетки индуцировали IPTG и культивировали при 25°C и 220 об/мин в течение ночи. Затем клетки *E. Coli*

обрабатывали ультразвуком, клеточный дебрис осаждали и удаляли, а белки отделяли центрифугированием.

- [00322]** Затем белки, экспрессирующие his-метку, очищали с использованием очистки Ni Sepharose в соответствии с протоколом производителя. В частности, сверхпоточные картриджи Qiagen Ni-NTA использовали для анализа с помощью аффинной хроматографии с иммобилизованными металлами (IMAC). Картриджи сначала уравнивали буфером A1 (50 мМ Na₃PO₄, 0,15 М NaCl, pH 7,2) со скоростью потока 150 см/ч. pH супернатанта культуральной среды доводили до 7,2 и пропускали через картриджи при комнатной температуре со скоростью 150 см/ч. Затем для уравнивания картриджей при скорости 150 см/ч использовали буфер A1 (в 6 раз превышающий объем картриджей). Для промывки картриджей использовали 50 мМ раствор ФБ (0,15 М NaCl и 0,2 М имидазола, pH 7,2) с объемом, в 10 раз превышающим объем картриджей, и собирали элюент.

Получение биотинилированного PcrV антигена

- [00323]** Биотинилирование 6His-Avi-PcrV с использованием биотинлигазы B0101A (GENESCOPOEIA™) проводили в соответствии с протоколом производителя. Вкратце, к 6His-Avi-PcrV добавляли буфер A1B и биотинлигазу с последующим инкубированием в течение 1 часа при 30°C. Биотинилированный PcrV далее упоминается как Bhavi-PcrV. Эффективность биотинилирования измеряли с помощью ELISA. Вкратце, Bhavi-PcrV удаляли путем инкубации с магнитными шариками (Dynabeads™ MyOne™ Streptavidin T1), а концентрацию 6His-Avi-PcrV в супернатанте определяли количественно с помощью ELISA с использованием 6His-Avi-PcrV с известной концентрацией в качестве стандартного материала. Было определено, что эффективность биотинилирования составляет 90%.

Отбор анти-PcrV scFv антител

- [00324]** Создание библиотеки дрожжевого дисплея антител scFv: РНК, собранную из 2000 образцов крови человека, подвергали обратной транскрипции в кДНК, и фрагменты VH и VK амплифицировали с использованием VH- и VK-специфических праймеров. После экстракции из геля и очистки scFv были созданы путем связывания VH и VK через линкер. scFv клонировали в дрожжевую плазмиду PYD1 дисплея, которую затем подвергали электропорации в дрожжи для создания библиотеки дрожжевого дисплея антител scFv.

Отбор анти-PcrV scFv антител как определено связыванием PcrV:

[00325] scFv, которые распознавали PcrV, выделяли из библиотеки дрожжевого дисплея. Вкратце, магнитно-активированную клеточную сортировку (MACS) использовали для обогащения клеток, экспрессирующих анти-PcrV scFv-антитела. Bhavi-PcrV смешивали с магнитными шариками (Dynabeads™ MyOne™ Streptavidin T1) в течение ночи, чтобы нанести биотинилированный PcrV на магнитные шарики в соответствии с протоколом производителя. Дрожжевую библиотеку антител scFv затем смешивали с гранулами, покрытыми PcrV, для обогащения дрожжей, которые демонстрируют антитела, распознающие PcrV, тогда как несвязывающие вещества вымываются на стадиях промывки. Затем собранные дрожжевые клетки метят белками PcrV и сортируют с помощью FACS для отбора дрожжевых клеток, проявляющих антитела с высокой аффинностью к PcrV. FACS-опосредованную селекцию повторяли 2-3 цикла. Отобранные клетки дрожжевой библиотеки высевали на агар, отбирали отдельные колонии и анализировали дальнейшим анализом FACS. Из клонов дрожжей, которые демонстрировали положительное связывание с PcrV, каждый ген scFV субклонировали в прокариотический вектор экспрессии и сливали с 6-his-меткой. Затем His-меченый scFv очищали, используя очистку Ni Sepharose, как описано выше. Панель положительных антител scFv была получена в конце процесса отбора и подвергнута функциональному тестированию на способность ингибировать лизис эритроцитов, вызванный *P. aeruginosa*.

Анализ анти-PcrV scFv кандидатов как определено ингибированием лизиса эритроцитов

[00326] Моноклональные антитела scFv отбирали и оценивали на биологическую активность с помощью анализа лизиса эритроцитов. Вкратце, эритроциты (RBC) получали из свежей цельной крови человека или кролика путем центрифугирования, добавляли ЭДТА и промывали несколькими промывками в фосфатно-солевом буфере (PBS). Промытые эритроциты (2,5% [об./об.] в конце) в модифицированной Дульбекко среде Игла (DMEM) плюс 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) (Gibco) и очищенные анти-PcrV антитела, разведенные в PBS, объединяли в лунки круглодонного 96-луночный планшета. Штамм 57/66(06) *P. aeruginosa* выращивали до средней логарифмической фазы в среде 2×YT (Oxford), собирали центрифугированием и ресуспендировали в DMEM-фетальной бычьей сыворотке (FBS) при оптической плотности при 600 нм (OD600) 0,15. Десять

микролитров бактериальной суспензии добавляли к смеси эритроцитов и антител, смешивали при перемешивании и инкубировали в течение 3 часов при 37°C и 5% CO₂. Планшеты кратковременно центрифугировали (1000 об/мин, 1 мин) для осаднения интактных эритроцитов, супернатанты переносили в плоскодонный 96-луночный планшет и измеряли OD₄₀₅ для обнаружения любого лизиса, из которого рассчитывали и наносили на график относительную степень ингибирования лизиса. Также определяли значения IC₅₀ для антител.

10 **Пример 2: Получение и характеристика полноразмерных человеческих анти-PcrV антител**

Получение полноразмерных анти-PcrV антител

[00327] Наиболее активные scFv-антитела были преобразованы в молекулы антитела IgG1 человека с константным доменом тяжелой цепи IgG1 человека и константным доменом легкой цепи каппа-цепи человека. VL и VH амплифицировали из прокариотического вектора экспрессии и вводили в эукариотические векторы экспрессии pTT5-L (содержащие константный домен каппа) и pTT5-H1 (содержащие константный домен тяжелой цепи IgG1). Плазмиды, экспрессирующие легкие и тяжелые цепи, экстрагировали и использовали для трансфекции клеток 293F. После культивирования клеток при 37°C, 8% CO₂ и 120 об/мин в течение 5 дней антитела в культуральной среде очищали с помощью аффинной хроматографии с белком A.

[00328] Вкратце, колонку с белком A сначала уравнивали буфером PBS, содержащим 50 mM PBS и 0,15 M NaCl (pH 7,2), при скорости потока 150 см/ч и объеме, который в шесть раз превышает объем колонки. Супернатант культуральной среды (pH доводили до 7,2) пропускали через колонку со скоростью 150 см/ч. После дальнейшего уравнивания колонку промывали 50 mM цитратом натрия (pH 3,5) и собирали элюат, содержащий анти-PcrV антитела. Полноразмерные антитела были функционально охарактеризованы по способности ингибировать лизис эритроцитов (см. пример 1 для справки), лизис клеток A549/U937, а также улучшать выживаемость в мышинной модели острой пневмонии в соответствии со способами, описанными в примере 1, и способами, описанными ниже.

Анализ анти-PcrV кандидатов как определено ингибированием лизиса A549 или U937

[00329] Для анализа способности ингибировать цитотоксичность и лизис клеток, вызванные *P. aeruginosa*, антитела-кандидаты против PcrV добавляли к линии
 5 клеток бронхоэпителия человека A549 или линии клеток гистиоцитарной лимфомы человека U937, высеванных в белые 96-луночные планшеты (Nunc Nunclon Дельта) в DMEM с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки. Штамм PA103(O11) *P. aeruginosa* с логарифмической фазой добавляли при множественности заражения (MOI) 10 и инкубировали в течение 2 часов при 37°C и 5% CO₂ с последующим
 10 20-минутным уравниванием при комнатной температуре. Лактатдегидрогеназу (ЛДГ), высвобождаемую из лизированных клеток, количественно определяли с использованием набора CytoTox-ONE (Promega) для анализа целостности мембраны. Соответственно на график наносили относительную степень ингибирования лизиса. Также определяли значения IC₅₀
 15 для антител.

Анализ анти-PcrV кандидатов как определено на мышинной модели острой пневмонии

[00330] Анти-PcrV антитела-кандидаты анализировали на способность повышать выживаемость в модели острой пневмонии у мышей. В профилактической модели
 20 7-8-недельным мышам BALB/c (Vital River Laboratory) за 24 часа до заражения внутрибрюшинно (ip) вводили антитела-кандидаты или PBS в дозах 1, 5, 10 или 25 мг/кг массы мыши. Для создания модели острой пневмонии, которую осуществляли, как описано ранее (DiGiandomenico et al., 2007, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 104:4624–4629), мышам BALB/c интраназально инокулировали *P. aeruginosa* (штамм PA103), суспендированный в 40 мкл инокулята в летальной дозе или в двойной летальной дозе (при 8×10^5 - 1.6×10^6 КОЕ; 1*или 2* LD90).
 25 Выживаемость мышей регистрировали в течение 7 дней после заражения.

13-42 mAb как лидерное антитело для дальнейшей оптимизации

[00331] Из полноразмерных антител, которые были созданы, моноклональное
 30 антитело 13-42 было выбрано в качестве ведущего исходного антитела, что определялось его способностью ингибировать лизис эритроцитов, лизис клеток

A549 или U937, а также способностью улучшать выживаемость в мышинной модели острой пневмонии.

Пример 3: Получение и характеристика оптимизированных полноразмерных анти-PcrV антител

5 **[00332]** Из полученных полноразмерных антител 13-42 было выбрано в качестве лидерного исходного антитела для дальнейшей оптимизации. В частности, 13-42 было оптимизировано для удаления свободных остатков цистеина и сайтов гликозилирования в области CDR3 тяжелой цепи (HC-CDR3), а также для улучшения гомологии с зародышевой линией человека путем селективной инженерии 11 аминокислотных остатков в HC-CDR1, HC-CDR2 и LC-CDR3. Для
10 оптимизации антител, полученных из 13-42, использовали две методики.

[00333] В первом способе локусы, кодирующие два цистеина в HC-CDR3, сначала мутировали для кодирования стоп-кодона для создания шаблона оптимизации. Впоследствии мутантные локусы, кодирующие стоп-кодона (ранее кодирующие
15 два цистеина), случайным образом мутировали в любую из 20 аминокислот. В то же время сайты гликозилирования (*m.e.* NSS) в HC-CDR3 удаляли путем мутации либо Asn (N), либо Ser (S) в любых последовательностях NXS в HC-CDR3; и локус для каждой оставшейся аминокислоты в CDR-H3 случайным образом мутировали по одной за раз. Наконец, нечеловеческие аминокислотные последовательности в
20 CDR-L3, CDR-H1 и CDR-H2 мутировали для улучшения гомологии с человеческими последовательностями.

[00334] В альтернативной схеме локусы, кодирующие два цистеина в HC-CDR3, сначала мутировали, чтобы кодировать стоп-кодона для создания шаблона оптимизации. Впоследствии мутантные локусы, кодирующие стоп-кодона (ранее
25 кодирующие два цистеина), случайным образом мутировали в любую из 20 аминокислот. В то же время локусы для всех аминокислот, ранее фланкированных цистеинами в CDR-H3, случайным образом одновременно мутировали. Наконец, нечеловеческие аминокислотные последовательности в CDR-L3, CDR-H1 и CDR-H2 мутировали для улучшения гомологии с человеческими
30 последовательностями.

[00335] Начиная с scFv 13-42, библиотеку фагового дисплея scFv, содержащую мутации в областях CDR, создавали, как описано выше. Варианты, которые были

способны связывать PcrV с высокой аффинностью и с низкой скоростью диссоциации, идентифицировали с помощью ELISA или BLI, и их функции тестировали на ингибирование лизиса эритроцитов и лизиса клеток A549. Антитела scFv, оптимизированные из 13-42, демонстрирующие сравнимую или

5 улучшенную биологическую активность по сравнению с исходными 13-42 scFv, использовали для получения полноразмерных антител. В конце отбора была получена панель оптимизированных полноразмерных антител.

[00336] Оптимизированные антитела тестировали на связывание PcrV путем анализа с помощью ELISA. Для эксперимента ELISA синтетический PcrV

10 применяли для покрытия лунок 96-луночного планшета. На следующий день, после промывки PBST, блокирования с применением 200 мкл PBS-молока в течение часа и еще одной промывки PBST, добавляли антитела и инкубировали в течение часа при 37°C. Планшет промывали с применением 0,1% TBST 6 раз, затем в каждую лунку добавляли 100 мкл козьего антитела-AP против Fc человека

15 (1:3000 в PBS) и инкубировали в течение часа. После 6-кратной промывки с применением 0,1% TBST в каждую лунку добавляли по 50 мкл pNPP и проявляли окраску в течение 10-20 минут при 37°C. Сигналы считывали устройством для считывания микропланшетов при 410 нм. Результаты ELISA (OD410) анализировали, и рассчитывали значения EC50, как показано в Таблице 5.

| Таблица 5: Аффинность связывания оптимизированных анти-PcrV mAb клонов с PcrV | | | |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------|----------------------------|
| Оптимизированные анти-PcrV клоны | Анализ ELISA EC50(мкг/мл) | Оптимизированные анти-PcrV клоны | Анализ ELISA EC50 (мкг/мл) |
| 4A10 | 0,1133 | 2B1 | 0,1624 |
| 7B1 | 0,1252 | 7B2 | 0,09672 |
| 7C1 | 0,1337 | 3H10 | 0,1488 |
| 8C1 | 0,1107 | 3G3 | 0,09364 |
| 6A10 | 0,1043 | 3A11 | 0,09516 |
| 5B3 | 0,1094 | 3A9 | 0,1161 |
| 3B12 | 0,1178 | 13-42 | 0,1316 |

[00337] Кинетика связывания и аффинность оптимизированных анти-PcrV клонов mAb 7B1, 7C1, 8C1, 6A10, 5B3, 3B12, 4A10, 2B1, 7B2, 3H10, 3G3, 3A11 и 3A9 с PcrV также тестировали с помощью BLI и показали в Таблице 6.

| Таблица 6: Аффинность связывания оптимизированных анти-PcrV mAb клонов с PcrV | | | |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----|----------|----------------------------------|
| Оптимизированные анти-PcrV клоны | mAb | kd(M) | Оптимизированные анти-PcrV клоны |
| 7B1 | | <1.0E-12 | 7B2 |
| 7C1 | | 1.01E-10 | 3H10 |
| 8C1 | | 3.30E-10 | 3G3 |
| 6A10 | | 2.04E-10 | 3A11 |
| 5B3 | | 4.55E-10 | 3A9 |
| 3B12 | | 1.67E-10 | 13-42 |
| 4A10 | | 6.06E-10 | |
| 2B1 | | 1.94E-10 | |

- 5 **[00338]** Оптимизированные полноразмерные антитела затем функционально охарактеризовали по способности ингибировать лизис эритроцитов и лизис клеток A549 в соответствии со способами, описанными в Примерах 1 и 2.

Оптимизированные анти-PcrV антитела ингибируют лизис эритроцитов и клеток A549, вызванный *P. aeruginosa*

Ингибирование лизиса RBC оптимизированными анти-PcrV антителами

- 10 **[00339]** Способность оптимизированных анти-PcrV клонов mAb 7B1, 7C1, 8C1, 6D10, 6A10, 5B3, 3B12, 4A10, 2B1, 7B2, 3H10, 3G3, 9B12, 3A9, 2D3, 7B1-1F5 ингибировать лизис эритроцитов сравнивали с исходным mAb 13-42 и эталонным антителом V2L2-MD. Анализ ингибирования лизиса эритроцитов проводили, как описано в Примере 1.

- 15 **[00340]** Как показано на ФИГ. 1A и 1B и в Таблице 7, все антитела, оптимизированные из 13-42, проявляли лучшую или сравнимую эффективность в ингибировании лизиса эритроцитов по сравнению с исходными mAb 13-42 и
20 V2L2-MD.

| Таблица 7: Эффективность оптимизированного анти-PcrV mAb для ингибирования лизиса эритроцитов | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Оптимизированные анти-PcrV клоны | Анализ лизиса эритроцитов IC ₅₀ (мкг/мл) | Оптимизированные анти-PcrV клоны | Анализ лизиса эритроцитов IC ₅₀ (мкг/мл) |
| 7B1 | 0,10 | 7B2 | 0,05 |
| 7C1 | 0,10 | 3H10 | 0,16 |
| 8C1 | 0,12 | 3G3 | 0,18 |
| 6D10 | 0,16 | 9B12 | 0,07 |
| 6A10 | 0,04 | 3A9 | 0,23 |
| 5B3 | 0,12 | 2D3 | 0,05 |
| 3B12 | 0,16 | 13-42 | 0,23 |
| 4A10 | 0,16 | V2L2-MD | 0,21 |
| 2B1 | 0,12 | 7B1-1F5 | 0,19 |

Ингибирование лизиса клеток A549 оптимизированными анти-PcrV антителами

[00341] Также оценивали способность оптимизированных анти-PcrV 7B1, 7C1, 8C1, 6D10, 6A10, 5B3, 3B12, 4A10, 2B1, 7B2, 3H10, 3G3, 3A11, 3A9 ингибировать лизис клеток A549 по сравнению с исходными 13-42 mAb. Анализ ингибирования лизиса клеток A549 проводили, как описано в Примере 2.

[00342] Как показано на ФИГ. 2А и 2В и в Таблице 8, все антитела, оптимизированные из 13-42, проявляли лучшую или сравнимую эффективность в ингибировании лизиса A549, чем исходные mAb 13-42.

| Таблица 8: Эффективность оптимизированных анти-PcrV mAb для ингибирования лизиса A549 | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Оптимизированные анти-PcrV клоны | Анализ цитотоксичности для A549 IC ₅₀ (мкг/мл) | Оптимизированные анти-PcrV клоны | Анализ цитотоксичности для A549 IC ₅₀ (мкг/мл) |
| 7B1 | 1,06 | 2B1 | 3,01 |
| 7C1 | 1,36 | 7B2 | 2,32 |
| 8C1 | 1,94 | 3H10 | 1,78 |
| 6D10 | 2,63 | 3G3 | 2,75 |

| | | | |
|------|------|-------|------|
| 6A10 | 2,00 | 3A11 | 0,91 |
| 5B3 | 2,39 | 3A9 | 1,21 |
| 3B12 | 2,68 | 13-42 | 2,67 |
| 4A10 | 2,80 | | |

Пример 4: Характеристика специфичности и аффинности оптимизированных анти-PcrV антител

[00343] Из оптимизированных антител антитела 7C1, 7B1, 8C1 и 6D10 были дополнительно охарактеризованы по их аффинности и специфичности в отношении связывания PcrV.

Аффинность связывания оптимизированных антител с PcrV

[00344] Константу ассоциации (k_a), константу диссоциации (k_d) и константу равновесной диссоциации (k_D) для связывания оптимизированных анти-PcrV клонов mAb 7B1, 7C1, 8C1, 6D10 и эталонного антитела V2L2-MD к PcrV тестировали с помощью BIACORE (компания GE). Определено, что значения k_D для оптимизированных клонов 7B1, 7C1, 8C1, 6D10 ($8,47E-11M$, $4,57E-11M$, $3,16E-11M$, $5,20E-11M$ соответственно) сопоставимы со значениями для антитела V2L2-MD ($4E-11 M$). Кроме того, оптимизированные антитела 7B1, 7C1, 8C1 и 6D10 продемонстрировали сравнимую кинетику ассоциации и диссоциации при связывании PcrV, о чем свидетельствуют сравнимые значения k_a и k_d (данные не представлены).

Специфичность анти-PcrV антител

[00345] Специфичность оптимизированных анти-PcrV антител характеризовали путем измерения перекрестной реактивности с частицами BV и с PcrV-негативными клетками A549.

[00346] *Перекрестная реактивность с BV частицами:* с помощью ELISA оптимизированные антитела 7C1, 7B1, 8C1, 6D10 и эталонные антитела V2L2-MD и Mab166 тестировали на перекрестную реактивность с частицами BV в соответствии со способом, описанным ранее (см. Hötzel I, et al, 2012, mAbs 4:6, 753–760). Как показано на ФИГ.3, Mab166 демонстрирует высокий уровень неспецифического связывания с BV частицами. Напротив, антитела 7C1, 7B1, 8C1, 6D10 демонстрировали низкие уровни неспецифического связывания, сходные с V2L2-MD и намного более низкие, чем Mab166.

[00347] *Перекрестная реактивность с клетками A549:* с использованием FACS исходное антитело 13-42, оптимизированные антитела 7C1, 7B1, 8C1, 6D10, а также V2L2-MD тестировали на перекрестную реактивность с PcrV-негативными клетками A549. Как показано на ФИГ. 4А-4Е, 13-42 mAb, а также оптимизированные антитела 7C1, 7B1, 8C1, 6D10 демонстрировали столь же низкие уровни связывания с A549, как отрицательный контроль (без антител) и V2L2-MD, в то время как положительное контрольное антитело, специфичное к GM-CSFR к клеткам A549, показало более высокий уровень связывания с клетками A549.

[00348] В совокупности эти результаты показывают, что оптимизированные антитела 7C1, 7B1, 8C1 и 6D10 демонстрируют такое же низкое неспецифическое связывание, как исходное антитело 13-42 mAb и эталонное антитело V2L2-MD, при этом демонстрируя гораздо более низкое неспецифическое связывание, чем Mab166, еще одно эталонное анти-PcrV антитело.

Пример 5: Оптимизированные полноразмерные анти-PcrV антитела нейтрализуют широкий спектр штаммов *P. aeruginosa*

[00349] Чтобы проверить, могут ли оптимизированные анти-PcrV антитела нейтрализовать широкий спектр штаммов *P. aeruginosa*, исследовали способность оптимизированных анти-PcrV антител ингибировать лизис эритроцитов и клеток A549, вызванный несколькими клинически значимыми штаммами *P. aeruginosa* (O6, O11, O1, O16), которые составляют 70% клинических случаев инфекций *P. aeruginosa*.

Ингибирование лизиса эритроцитов оптимизированными анти-PcrV антителами

[00350] Оптимизированные анти-PcrV клоны mAb 7C1, 8C1 и 7B1 дополнительно анализировали на предмет их способности ингибировать лизис эритроцитов различными штаммами *P. aeruginosa*, а именно штаммами O1-52/66, O16-177/81, и O6-57/66 по сравнению с исходным mAb 13-42 и эталонным антителом V2L2-MD. Анализ ингибирования лизиса эритроцитов проводили, как описано в Примере 1.

[00351] Как показано на ФИГ. 5А-5С и в Таблице 9, оптимизированные клоны mAb 7C1, 8C1 и 7B1 показали лучшую эффективность в ингибировании лизиса

эритроцитов штаммами O1-52/66, O16-177/81 и O6-57/66, чем любое эталонное антитело V2L2-MD или исходное mAb 13-42.

Таблица 9:
Эффективность оптимизированного анти-PcrV в ингибировании лизиса эритроцитов, вызванного различными штаммами *P. aeruginosa*

| Клоны mAb | Штамм <i>P. aeruginosa</i> | | | Средняя IC50 (мг/мл) |
|-----------|----------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------|
| | O1-52/66 IC50 (мг/мл) | O16-177/81 IC50 (мг/мл) | O6-57/66 IC50 (мг/мл) | |
| 7C1 | 0,3674 | 0,1409 | 0,0767 | 0,1950 |
| 8C1 | 0,4240 | 0,2522 | 0,1207 | 0,2656 |
| 7B1 | 0,3079 | 0,1974 | 0,1380 | 0,2144 |
| 13-42 | 0,4720 | 0,4635 | 0,1303 | 0,3553 |
| V2L2-MD | 0,6345 | 0,4769 | 0,1464 | 0,4193 |

Ингибирование лизиса клеток A549 оптимизированными анти-PcrV антителами

5

[00352] Оптимизированные анти-PcrV клоны mAb 7C1, 8C1 и 7B1 анализировали на их способность ингибировать лизис клеток A549 различными штаммами *P. aeruginosa*, а именно штаммами O6-57/66, O11-PA103, O1-52/66 и O16-177/81 по сравнению с исходным mAb 13-42. Анализ ингибирования лизиса клеток A549 проводили, как описано в Примере 2.

10

[00353] Как показано на ФИГ. 6А-6D и в Таблице 10, оптимизированные клоны mAb 7C1, 8C1 и 7B1 продемонстрировали сравнимую эффективность в ингибировании лизиса A549 штаммами O6-57/66, O11-PA103, O1-52/66 и O16-177/81 по сравнению с исходными 13-42 mAb.

Таблица 10:
Эффективность ингибирования лизиса клеток A549, вызванного различными штаммами *P. aeruginosa*

| mAb клоны | Штамм <i>P. aeruginosa</i> | | | | Средняя IC50 (мг/мл) |
|-----------|----------------------------|------------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------|
| | O6-57/66 IC50 (мг/мл) | O11-PA103 IC50 (мг/мл) | O1-52/66 IC50 (мг/мл) | O16-177/81 IC50 (мг/мл) | |
| 13-42 | 0,8909 | 1,207 | 2,339 | 1,078 | 1,3787 |
| 7C1 | 0,4962 | 1,117 | 1,998 | 1,095 | 1,1766 |
| 7B1 | 0,5031 | 2,607 | 4,558 | 0,8606 | 2,1322 |
| 8C1 | 0,7206 | 1,536 | Н/О | 0,8811 | 1,0459 |

15

[00354] Чтобы дополнительно проиллюстрировать, что оптимизированные антитела могут нейтрализовать широкий диапазон штаммов *P. aeruginosa*, была протестирована способность этих антител связывать различные формы мутантов PcrV. Вкратце, 100 последовательностей PcrV были случайным образом выбраны из базы данных Genbank. В отличие от последовательности дикого типа, как показано в SEQ ID No: 71, 13% выбранных последовательностей содержали R, G или K в положении 225 (по сравнению с S в последовательности дикого типа SEQ No: 71), что было основной мутацией вокруг эпитопа 7B1.

[00355] Оптимизированные антитела 7B1, 7C1, 8C1 и 6D10 характеризовали по их аффинности и специфичности в отношении связывания с этими мутантами PcrV (с мутациями в положении 225), и было обнаружено, что они также прочно связываются с этими мутантами (данные не показаны). Эти результаты также показывают, что оптимизированные анти-PcrV антитела могут нейтрализовать широкий спектр штаммов *P. aeruginosa*, которые могут экспрессировать различные формы мутантов PcrV.

Пример 6: Оптимизированные анти-PcrV антитела как профилактическое лечение инфекции *P. aeruginosa*

[00356] Способность оптимизированных анти-PcrV антител профилактически защищать от инфекции *P. aeruginosa* была продемонстрирована улучшением выживаемости на мышинной модели пневмонии, модели внутрибрюшинной инфекции и мышинной модели пневмонии с ослабленным иммунитетом.

Улучшение выживаемости в мышинной модели пневмонии с помощью анти-PcrV антител

[00357] Способность оптимизированных анти-PcrV антител 7C1, 7B1 и 3G3 улучшать выживаемость в мышинной модели пневмонии оценивали по сравнению с исходными mAb 13-42 и HIV-10E8, широко нейтрализующим антителом против ВИЧ, описанным ранее (см. Huang J, et al, 2012, Nature 491:406), в качестве отрицательного контроля.

[00358] В профилактической модели 7-8-недельным мышам BALB/c (Vital River Laboratory) вводили антитела внутрибрюшинно (в/б) за 24 часа до заражения в дозах 1 или 10 мг/кг массы тела мыши. Чтобы вызвать острую пневмонию, мышам

BALB/c интраназально инокулировали *P. aeruginosa* (штамм PA103), взвешенные в 40 мкл инокулята, в летальной дозе ($1 \cdot LD_{90}$) или в двойной летальной дозе ($2 \cdot LD_{90}$) ($8 \times 10^5 \sim 1,6 \times 10^6$ КОЕ). Выживаемость мышей регистрировали в течение 7 дней после заражения. Результаты были представлены в виде кривых выживаемости Каплана-Мейера.

[00359] Как показано кривыми выживаемости Каплана-Мейера на ФИГ. 7А и 7В, при 1х и 2х летальных дозах ($1 \cdot LD_{90}$ или $2 \cdot LD_{90}$; $8 \times 10^5 \sim 1,6 \times 10^6$ КОЕ) инокуляции *P. aeruginosa* все анти-PcrV антитела продемонстрировали значительное улучшение выживаемости по сравнению с отрицательным контролем ($P < 0,001$). Кроме того, оптимизированные антитела 7С1, 7В1 демонстрировали сравнимые или лучшие увеличения выживаемости, чем исходные mAb 13-42 ($P < 0,05$). Различия в выживаемости рассчитывали с помощью логарифмического рангового критерия.

Нагрузка на органы в мышинной модели пневмонии, которой вводили анти-PcrV антитела

[00360] Способность исходного анти-PcrV антитела 13-42 mAb снижать нагрузку на органы в модели острой пневмонии оценивали и сравнивали со способностью эталонного антитела V2L2-MD. Далее оценивали способность оптимизированных клонов анти-PcrV антител 7В1, 7С1, 8С1 и 6D10 снижать нагрузку на органы для модели острой пневмонии. HIV-10E8 использовали в качестве отрицательного контроля.

[00361] В профилактической модели 7-8-недельным мышам BALB/c (Vital River Laboratory) вводили антитела или PBS внутрибрюшинно (в/б) за 24 часа до заражения в дозе 10 мг/кг массы мыши. Чтобы вызвать острую пневмонию, мышам BALB/c интраназально инокулировали *P. aeruginosa* (штамм PA103), суспендированный в 40 мкл инокулята в половине летальной дозы ($0,5 \cdot LD_{90}$; 3×10^5 КОЕ). Через 24 часа после заражения мышей подвергали эвтаназии, при этом легкие, селезенки и почки извлекали, гомогенизировали и разбавляли перед посевом на агар для измерения единиц жизнеспособных бактерий (в КОЕ), которые представляли нагрузку *P. aeruginosa* в соответствующем образце органа.

[00362] Как показано на ФИГ. 8А, mAb 13-42 продемонстрировали лучшую эффективность в снижении нагрузки на органы в легких и аналогичную эффективность в снижении нагрузки на органы в селезенке и почках в мышинной модели пневмонии по сравнению с V2L2-MD.

[00363] Как показано на ФИГ. 8В, оптимизированные клоны анти-*PcrV* антител 7В1, 7С1, 8С1 и 6D10 продемонстрировали сравнимую эффективность в снижении нагрузки на органы в легких, селезенке и почках по сравнению с V2L2-MD и показали более высокую эффективность в снижении нагрузки на органы в легких, селезенке и почках в мышинной модели пневмонии по сравнению с HIV-10E8.

*Улучшение выживаемости в модели внутрибрюшинной инфекции у мышей с использованием анти-*PcrV* антител*

[00364] Способность оптимизированных анти-*PcrV* антител 7С1, 7В1 и 8С1 повышать выживаемость в модели внутрибрюшинной инфекции у мышей оценивали по сравнению с исходными mAb 13-42. HIV-10E8 использовали в качестве отрицательного контроля. Мышиную модель внутрибрюшинной инфекции создавали, как описано ранее (см. Warrener et al., 2014, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 58, 4384–4391).

[00365] В профилактической модели 7-8-недельным мышам BALB/c (Vital River Laboratory) вводили антитела путем внутрибрюшинной (в/б) инъекции за 24 часа до заражения в дозах 5 или 25 мг/кг массы тела мыши. Чтобы вызвать внутрибрюшинную инфекцию, мышам BALB/c внутрибрюшинно инокулировали *P. aeruginosa* (штамм O6-57/66), суспендированные в 300 мкл инокулята, в тройной летальной дозе ($3 \times LD_{90} = 7 \times 10^5$ КОЕ). Выживаемость мышей регистрировали в течение 5 дней после заражения.

[00366] Как показано на ФИГ. 9, при тройной летальной дозе ($3 \times LD_{90}$) инокуляции *P. aeruginosa* все анти-*PcrV* антитела демонстрировали значительное улучшение выживаемости по сравнению с отрицательным контролем при дозе антитела 25 мг/кг ($P < 0,0001$). Кроме того, оптимизированные антитела 7С1, 7В1 демонстрировали сравнимое или лучшее улучшение выживаемости по сравнению с исходными mAb 13-42 при дозе антитела 5 мг/кг ($P < 0,05$). Различия в выживаемости рассчитывали с помощью логарифмического рангового критерия.

*Повышение выживаемости в модели мышинной пневмонии с ослабленным иммунитетом с помощью анти-*PcrV* антител*

[00367] Способность оптимизированных анти-*PcrV* антител 7С1, 7В1 и 8С1 улучшать выживаемость в модели острой пневмонии у мышей с ослабленным иммунитетом оценивали по сравнению с исходными антителами 13-42. HIV-10E8 использовали в качестве отрицательного контроля. Модель острой пневмонии у

мышей с ослабленным иммунитетом создавали, как описано ранее (DiGiandomenico et al., 2014, *Sci. Transl. Med.*, 6: 262ra155).

5 **[00368]** В профилактической модели для достижения иммуносупрессии 7-8-недельным мышам BALB/c (Vital River Laboratory) сначала вводили 2 дозы по 150 мг/кг циклофосфамида за 4 дня и за 1 день до инфицирования *P. aeruginosa*, чтобы подавить количество лейкоцитов. Затем антитела вводили внутривентриально (в/б) за 24 часа до заражения в дозах от 3,2 до 5 мг/кг массы тела мыши. Чтобы вызвать острую пневмонию, мышам BALB/c интраназально инокулировали *P. aeruginosa* (штамм 06-57/66), суспендированные в 40 мкл инокулята в летальной дозе ($1 \cdot LD_{90} = 10$ БОЕ). Выживаемость мышей регистрировали в течение 10 дней после заражения.

15 **[00369]** Как показано на ФИГ. 10, при летальной дозе ($1 \cdot LD_{90}$) инокуляции *P. aeruginosa* все анти-PcrV антитела демонстрировали значительное улучшение выживаемости по сравнению с отрицательным контролем ($P < 0,05$). Кроме того, оптимизированное антитело 7C1 продемонстрировало лучшее улучшение выживаемости, чем исходное антитело 13-42 ($P < 0,05$), в то время как оптимизированные антитела 7B1, 8C1 показали сравнимую или лучшую защиту, чем исходное антитело 13-42 ($P < 0,05$). Различия в выживаемости рассчитывали с помощью логарифмического рангового критерия.

20 **[00370]** В совокупности эти результаты показывают, что анти-PcrV-антитела, раскрытые в настоящем документе, можно применять для профилактической нейтрализации инфекции *P. aeruginosa* в модели острой пневмонии у мышей с ослабленным иммунитетом.

25 **Пример 7: Оптимизированные анти-PcrV антитела в качестве терапевтического средства для лечения инфекции *P. aeruginosa***

[00371] Способность оптимизированных анти-PcrV антител терапевтически нейтрализовать инфекцию, вызванную *P. aeruginosa*, была продемонстрирована улучшением выживаемости на модели мышинной пневмонии.

30 *Повышение выживаемости в мышинной модели пневмонии с помощью оптимизированных анти-PcrV антител*

[00372] Способность оптимизированных анти-PcrV антител 7C1, 7B1, 8C1 и 6D10 улучшать выживаемость в мышинной модели острой пневмонии оценивали по

сравнению с положительным контролем V2L2-MD. HIV-10E8 использовали в качестве отрицательного контроля.

5 **[00373]** В терапевтической модели для индуцирования острой пневмонии мышам BALB/c в возрасте 7-8 недель (лаборатория Vital River) интраназально инокулировали *P. aeruginosa* (штамм PA103), суспендированный в 40 мкл инокулята в летальной дозе ($1 \cdot LD_{90} = 8 \times 10^5$ КОЕ). Антитела или PBS вводили внутривенно (в/в) через 1 ч после заражения в дозе 1 мг/кг или 10 мг/кг массы тела мыши. Выживаемость мышей регистрировали в течение 6 дней после заражения.

10 **[00374]** Как показано на ФИГ. 11А-11В, при летальной дозе ($1 \cdot LD_{90}$) инокуляции *P. aeruginosa* все анти-PcrV антитела демонстрировали значительное улучшение выживаемости по сравнению с отрицательным контролем ($p < 0,05$). Кроме того, оптимизированные антитела 7C1, 7B1, 8C1 и 6D10 продемонстрировали улучшение выживаемости, сравнимое с таковым для V2L2-MD. Различия в выживаемости рассчитывали с помощью логарифмического рангового критерия.

15 Результаты показывают, что анти-PcrV-антитела, описанные в настоящем документе, могут быть использованы для терапевтической нейтрализации инфекции *P. aeruginosa*.

Пример 8: Комбинированное лечение инфекции *P. aeruginosa* с использованием оптимизированных анти-PcrV антител и антибиотиков

20 *Улучшение выживаемости в модели внутрибрюшинной инфекции у мышей с помощью анти-PcrV антител в комбинации с антибиотиками*

25 **[00375]** Способность оптимизированного анти-PcrV антитела 7B1 или 8C1 улучшать выживаемость в мышинной модели внутрибрюшинной инфекции оценивали по сравнению с антибиотиками меропенемом, тобрамицином, ципрофлоксацином; а также по сравнению с комбинированным лечением 7B1 или 8C1 с любым антибиотиком. HIV-10E8 использовали в качестве отрицательного контроля.

30 **[00376]** В профилактической модели тестирования анти-PcrV 7-8-недельным мышам BALB/c (Vital River Laboratory) внутрибрюшинно вводили антитело за 24 часа до заражения или антибиотик через 1 час после заражения. В частности, мышам вводили либо клон оптимизированного анти-PcrV антитела 7B1 или 8C1 (в дозе 5 мг/кг), меропенем (в дозе 3 мг/кг), тобрамицин (в дозе 10 мг/кг),

ципрофлоксацин (в дозе 30 мг/кг), либо комбинацию 7B1 или 8C1 с одним из антибиотиков. Чтобы вызвать внутрибрюшинную инфекцию, мышам BALB/c внутрибрюшинно инокулировали *P. aeruginosa* (штамм PA103), суспендированный в 300 мкл инокулята, в тройной летальной дозе ($3*LD_{90}=7 \times 10^5$ КОЕ).

5 Выживаемость мышей регистрировали в течение 5 дней после заражения.

[00377] Как показано на ФИГ. 12А, при летальной дозе $3*LD_{90}$ инокуляции *P. aeruginosa* (штамм PA103) оптимизированные антитела 7B1 (при 5 мг/кг) демонстрировали лучшее или сравнимое улучшение выживаемости, чем антибиотики меропенем (при 3 мг/кг). Комбинация 7B1 (при 5 мг/кг) с
10 антибиотиками меропенемом (3 мг/кг), тобрамицином (10 мг/кг) или ципрофлоксацином (30 мг/кг) продемонстрировала повышенное улучшение выживаемости по сравнению с лечением только антителами или соответствующим лечением только антибиотиками ($p < 0,05$). Как показано на ФИГ. 12В, комбинация 8C1 (в дозе 5 мг/кг) с антибиотиками тобрамицином (в дозе 10 мг/кг) или
15 ципрофлоксацином (в дозе 30 мг/кг) также показала повышенное улучшение выживаемости по сравнению либо с обработкой антителами, либо с обработкой соответствующими антибиотиками ($p < 0,05$). Эти результаты демонстрируют клинический потенциал использования описанных в настоящем документе анти-PcrV антител в комбинации с антибиотиками для нейтрализации *P.*
20 *aeruginosa*.

Пример 9: Фармакокинетический профиль оптимизированных анти-PcrV антител

[00378] Для исследования фармакокинетики *in vivo* исходного 13-42 анти-PcrV
25 антитела, а также оптимизированных клонов, уровни антител 7C1, 7B1, 8C1 и 6D10 в плазме крови крыс измеряли с течением времени.

[00379] *Фармакокинетический профиль у крыс:* 40 здоровых взрослых крыс (массой примерно 0,2 кг) были поровну разделены на две группы, где в каждой группе была зарегистрирована аналогичная средняя масса тела. Одной группе
30 внутривенно вводили 30 мг/кг V2L2-MD, 7C1, 7B1, 8C1 или 6D10, а другой группе внутривенно вводили 3 мг/кг V2L2-MD, 7C1, 7B1, 8C1 или 6D10. Кровь собирали в через час после инъекции, а затем через 0 часов, 0,5 часа, 2 часа, 8 часов, 1 день, 3 дня, 7 дней, 11 дней, 17 дней, 23 дня, 31 день, 41 день и 52 дня после инъекции.

После центрифугирования плазму использовали для анализа концентрации антител с помощью ELISA. Для эксперимента ELISA синтетический PcrV использовали для покрытия лунок 96-луночного планшета. На следующий день, после промывки посредством PBST, блокирования посредством 200 мкл PBS-молока в течение часа и еще одной промывки PBST, добавляли плазму и инкубировали в течение часа при 37°C. Планшет промывали посредством 0,1% TBST 6 раз, затем в каждую лунку добавляли 100 мкл козьего антитела-AP против Fc человека (1:3000 в PBS) и инкубировали в течение часа. После 6-кратной промывки посредством 0,1% TBST в каждую лунку добавляли по 50 мкл pNPP и проявляли окраску в течение 10-20 минут при 37°C. Сигналы считывали устройством для считывания микропланшетов при 410 нм.

[00380] Как показано на ФИГ. 13А и 13В, периоды полувыведения 7С1, 7В1, 8С1 или 6D10 как при высоком, так и при низком уровне внутривенного введения дозы (3 мг/кг или 30 мг/кг) были сравнимы или превышали таковые для эталонного антитела V2L2-MD, что указывает на то, что оптимизированные антитела демонстрировали более стабильные фармакокинетические профили в различных дозах по сравнению с эталонным антителом V2L2-MD.

Пример 10: Эпитоп, распознаваемый оптимизированными антителами

[00381] Чтобы охарактеризовать эпитоп, связываемый анти-PcrV антителом, в белок PcrV вводили мутации, и с помощью ELISA измеряли способность оптимизированного антитела 7B1 mAb связывать эти мутанты PcrV.

Картирование эпитопа анти-PcrV антител

[00382] С помощью программного обеспечения Discovery Studio идентифицировали предполагаемые сайты связывания на PcrV для 7B1 и оптимизированных антител, а аминокислотные остатки в сайтах связывания и вблизи сайтов связывания отбирали и подвергали аланиновому сканированию. Впоследствии были экспрессированы белки PcrV, несущие эти выбранные мутации. Аффинность связывания 7B1-IgG1 с каждым мутантным белком PcrV анализировали с помощью ELISA. На ФИГ. 14А-14D показаны кривые связывания ELISA для антител к мутированному PcrV, где положения мутаций соответствовали последовательности SEQ ID NO: 71. Используемый в контексте данного документа PcrV представляет собой His-меченный PcrV *P. aeruginosa*

дикого типа (PcrV-6His). Мутации в различных положениях аминокислотной последовательности PcrV дикого типа генерировали с использованием аланинового сканирования, как описано выше. Как показано на ФИГ. 14А-14D, мутация в положении Q160 значительно повлияла на связывание 7В1-IgG1 (ФИГ. 5 14С). Напротив, мутация Q160 в PcrV не влияет на связывание эталонного антитела V2L2-MD (данные не показаны). Мутация в положении D165 также влияла на связывание 7В1-IgG1 (ФИГ. 14С). Кроме того, мутации в каждом из положений D170, D173, T175 и S202 влияли на связывание 7В1-IgG1 (ФИГ. 14D). Основываясь на этих результатах, типичные эпитопы антител 7В1-IgG1 были 10 идентифицированы как содержащие аминокислотные остатки Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 в соответствии с SEQ ID NO: 71.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное анти-PcrV антитело, которое специфически связывается с эпитопом на PcrV *Pseudomonas*, при этом эпитоп содержит аминокислотные остатки Gln160, Asp165, Asp170, Asp173, Thr175 и Ser202 PcrV *Pseudomonas*.
2. Выделенное анти-PcrV антитело по п. 1, где указанное анти-PcrV антитело связывается с PcrV *Pseudomonas* с K_d от примерно 0,1 пМ до примерно 1 нМ.
3. Выделенное анти-PcrV антитело, где указанное анти-PcrV антитело содержит:

вариабельный домен тяжелой цепи (V_H), содержащий определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1, содержащую $X_1X_2X_3MS$ (SEQ ID NO: 39), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, при этом X_1 представляет собой D или S, X_2 представляет собой Y или N и X_3 представляет собой P, H, Y или S; HC-CDR2, содержащую $X_1ISESGGSTX_2X_3ADSVKG$ (SEQ ID NO: 40), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, при этом X_1 представляет собой G или V; X_2 представляет собой N или Y; и X_3 представляет собой D или Y; и HC-CDR3, содержащую $GRFX_1X_2X_3X_4X_5X_6FX_7RAVYGMDV$ (SEQ ID NO: 41), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, при этом X_1 представляет собой S или C, X_2 представляет собой T, G, D, Y, Q или A, X_3 представляет собой S, D, N, E, L, A, или Y, X_4 представляет собой S, T, Y или A, X_5 представляет собой S, H, Q, A, R, K, G, E, Y или D, X_6 представляет собой H или C, и X_7 представляет собой F или Y;

и вариабельный домен легкой цепи (V_L), содержащий определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1, содержащую $RASQGIX_1SYLA$ (SEQ ID NO: 42), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, при этом X_1 представляет собой S или R;

LC-CDR2, содержащую $AASTLQS$ (SEQ ID NO: 34), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; и LC-CDR3, содержащую $QQLX_1SYPLX_2$ (SEQ ID NO: 43), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, при этом X_1 представляет собой S, N или K, и X_2 представляет собой S или T.

4. Выделенное анти-PcrV антитело по п. 3, где указанное анти-PcrV антитело содержит:

V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую DX₁X₂MS (SEQ ID NO: 44), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, при этом X₁ представляет собой N или Y и X₂ представляет собой P, H, или Y; HC-CDR2, содержащую X₁ISESGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO: 45), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, при этом X₁ представляет собой G или V; и HC-CDR3, содержащую GRFSTX₁SX₂HFX₃RAVYGMDV (SEQ ID NO: 46), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, при этом X₁ представляет собой N, S, D или L, X₂ представляет собой S или A, и X₃ представляет собой F или Y;

и V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 32), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; LC-CDR2, содержащую AASTLQS (SEQ ID NO: 34), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; и LC-CDR3, содержащую QQLSSYPLX₁ (SEQ ID NO: 47), или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен, причем X₁ представляет собой S или T.

5. Выделенное анти-PcrV антитело, содержащее:

V_H, содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-8, или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 9-14, или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 15-31, или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; и

V_L, содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32-33, или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен; и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 35-38, или ее вариант, содержащий до примерно 3 аминокислотных замен.

6. Выделенное анти-PcrV антитело, содержащее V_H , содержащий HC-CDR1, HC-CDR2 и HC-CDR3 из V_H , содержащего аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 48-64; и V_L , содержащий LC-CDR1, LC-CDR2 и LC-CDR3 из V_L , содержащего аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-70.
7. Выделенное анти-PcrV антитело по любому из пп. 1-6, содержащее:
- (i) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;
 - (ii) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;
 - (iii) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;

- (vii) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;
- (viii) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;
- (ix) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37,

или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;

- (x) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;
- (xi) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;
- (xii) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;

(xvii) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR; или

(xviii) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

8. Выделенное анти-PcrV антитело по п. 7, содержащее:

(i) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;

- (ii) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR;
- (iii) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR; или
- (iv) V_H , содержащий HC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, HC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и HC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29,

или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в HC-CDR; и V_L , содержащий LC-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, LC-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и LC-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или его вариант, содержащий до примерно 5 аминокислотных замен в LC-CDR.

9. Выделенное анти-PcrV антитело по любому из пп. 1-8, содержащее:

V_H , содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 48-64 или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью по любой из SEQ ID NO: 48-64; и

V_L , содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 65-70 или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью по любой из SEQ ID NO: 65-70.

10. Выделенное анти-PcrV антитело по п. 9, содержащее:

V_H , содержащий аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 51-52 и 61-62, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью по любой из SEQ ID NO: 51-52 и 61-62; и

V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 или 67, или ее вариант, имеющий по меньшей мере примерно 90% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью по SEQ ID NO: 65 или 67.

11. Выделенное анти-PcrV антитело по п. 9, содержащее:

(i) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65;

(ii) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65;

- (iii) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66;
- (iv) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67;
- (v) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65;
- (vi) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65;
- (vii) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65;
- (viii) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67;
- (ix) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67;
- (x) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68;
- (xi) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69;
- (xii) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65;
- (xiii) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65;

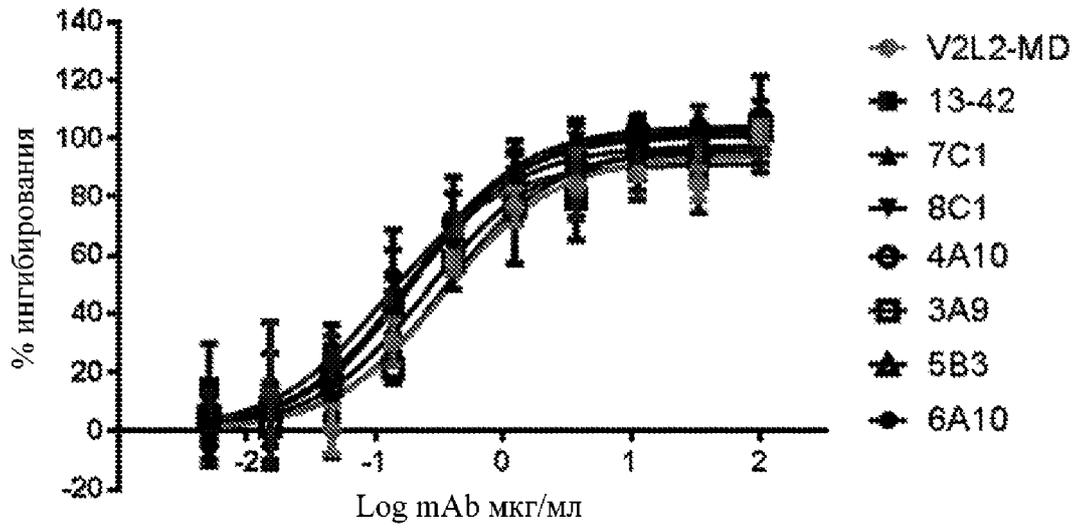
- (xiv) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65;
 - (xv) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67;
 - (xvi) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65;
 - (xvii) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; или
 - (xviii) V_H , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, и V_L , содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70.
12. Выделенное анти-PcrV антитело, которое специфически связывается с PcrV конкурентно с выделенным анти-PcrV антителом по любому из пп. 1-11, или специфически связывается с тем же эпитопом, что и выделенное анти-PcrV антитело по любому из пп. 1-11.
13. Выделенное анти-PcrV антитело по любому из пп. 1-12, где указанное анти-PcrV антитело содержит Fc-фрагмент.
14. Выделенное анти-PcrV антитело по п. 13, где указанное анти-PcrV антитело представляет собой полноразмерное IgG антитело.
15. Выделенное анти-PcrV антитело по п. 14, где указанное анти-PcrV антитело представляет собой полноразмерное IgG1 или IgG4 антитело.
16. Выделенное анти-PcrV антитело по любому из пп. 1-15, где указанное анти-PcrV антитело является химерным, человеческим или гуманизированным.
17. Выделенное анти-PcrV антитело по любому из пп. 1-12, где указанное анти-PcrV антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент,

выбранный из группы, состоящей из Fab, Fab', F(ab)'₂, Fab'-SH, одноцепочечного Fv (scFv), Fv-фрагмента, dAb, Fd или диатела.

18. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, которая кодирует выделенное анти-PcrV антитело по любому из пп. 1-17.
19. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п. 18.
20. Выделенная клетка-хозяин, содержащая выделенное анти-PcrV антитело по любому из пп. 1-17, выделенную нуклеиновую кислоту по п. 18, или вектор по п. 19.
21. Способ получения выделенного анти-PcrV антитела, содержащий:
 - a) культивирование клетки-хозяина по п. 20 в условиях, эффективных для экспрессии анти-PcrV антитела; и
 - b) получение экспрессированного анти-PcrV антитела из клетки-хозяина.
22. Фармацевтическая композиция, содержащая анти-PcrV антитело по любому из пп. 1-17, нуклеиновую кислоту по п. 18, вектор по п. 19, или выделенную клетку-хозяина по п. 20, и фармацевтически приемлемый носитель.
23. Способ лечения заболевания или состояния у нуждающегося в этом индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества фармацевтической композиции по п.22.
24. Способ по п. 23, где заболевание или состояние представляет собой патогенную инфекцию.
25. Способ по п. 24, где указанная инфекция представляет собой грамотрицательную бактериальную инфекцию.
26. Способ по п. 25, где бактерия представляет собой *Pseudomonas aeruginosa*.
27. Способ по любому из пп. 23-26, где заболевание или состояние включают один или более симптомов, вызванных инфекцией *Pseudomonas aeruginosa*.

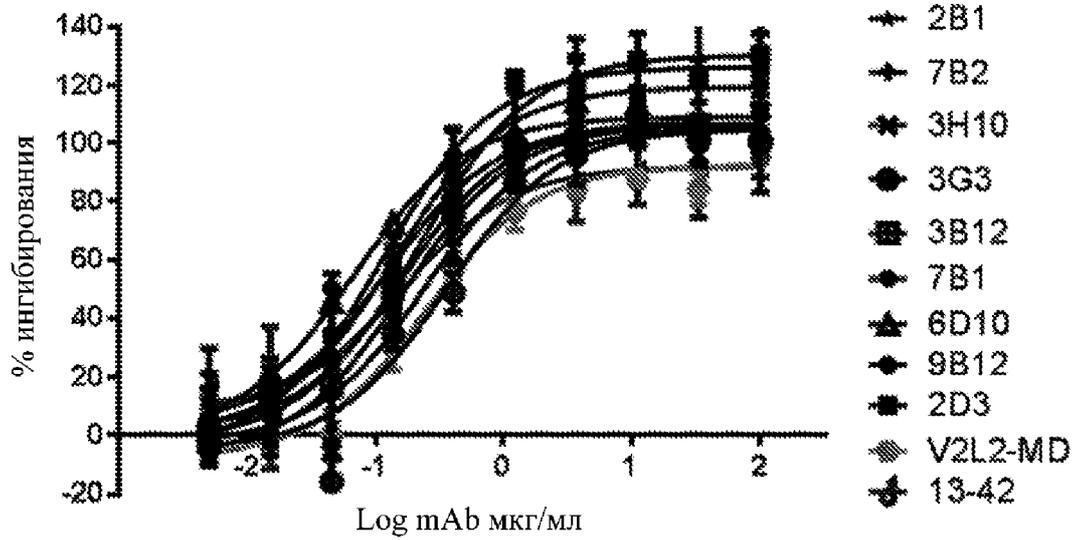
28. Способ по п. 27, где симптом включает один или более из лихорадки, озноба, усталости, боли в мышцах и суставах, припухлости суставов, головной боли, диареи, кожной сыпи, гноя в ранах, бактериемии, острой пневмонии, внутрибрюшинной инфекции, инфекции дыхательных путей, септического шока, гнойного артрита, энтерита, инфекции кожи и мягких тканей, инфекции мочевыводящих путей, кишечных инфекций, язвенного кератита, хронического гнойного среднего отита, мастоидита, синусита или эндокардита.
29. Способ по любому из пп. 23-28, где указанный способ дополнительно включает введение одного или более терапевтических агентов.
30. Способ по п. 29, где по меньшей мере один из терапевтических агентов представляет собой антибиотик.
31. Способ по п. 30, где антибиотик представляет собой один или более из имипенема, тобрамицина, ципрофлоксацина, меропенема или азтреонама.

Ингибирование лизиса эритроцитов



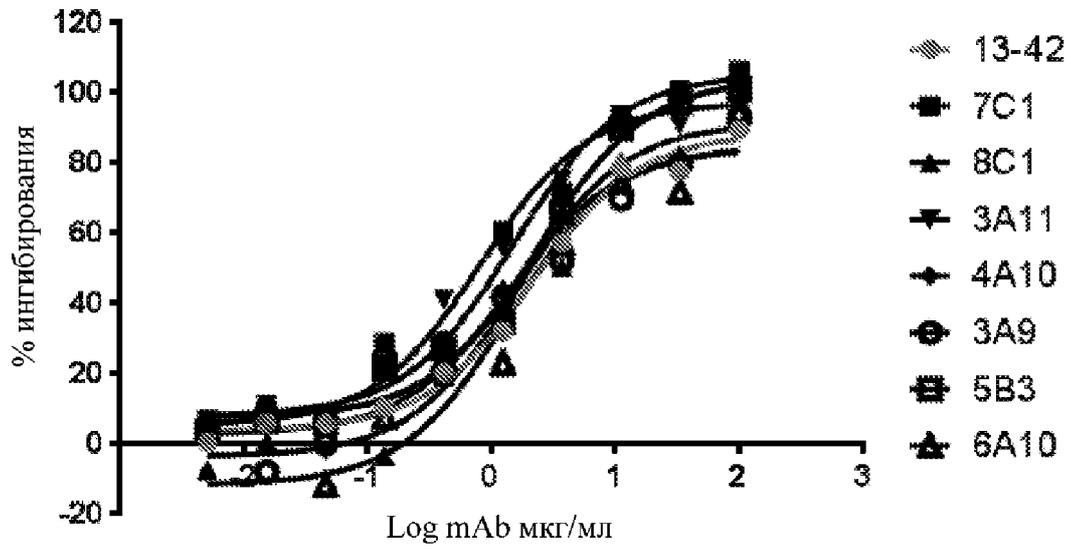
ФИГ. 1А

Ингибирование лизиса эритроцитов



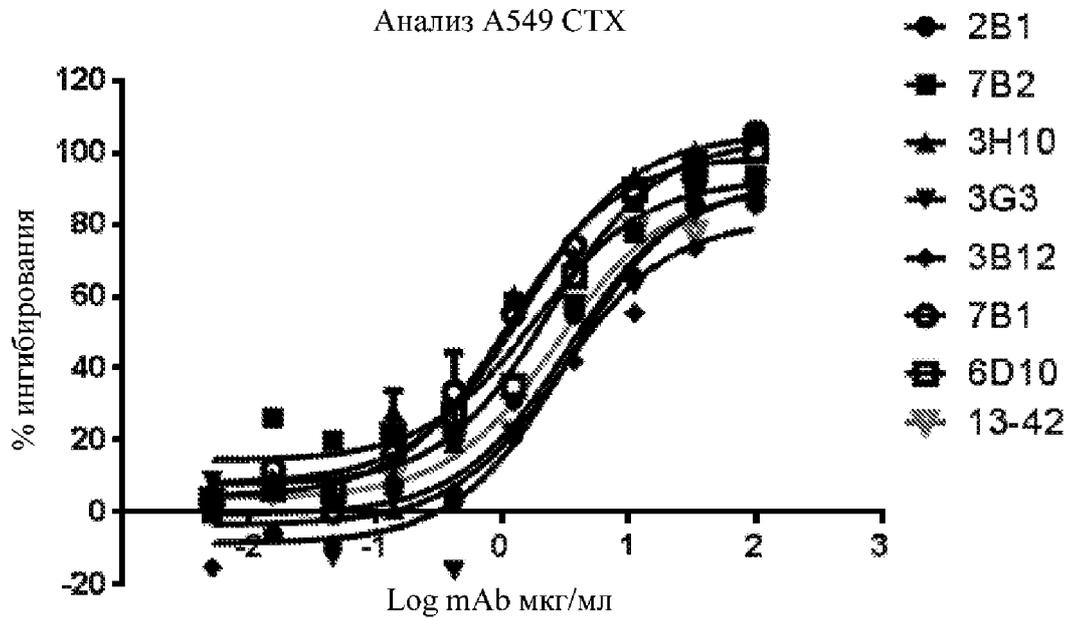
ФИГ. 1В

Анализ A549 СТХ

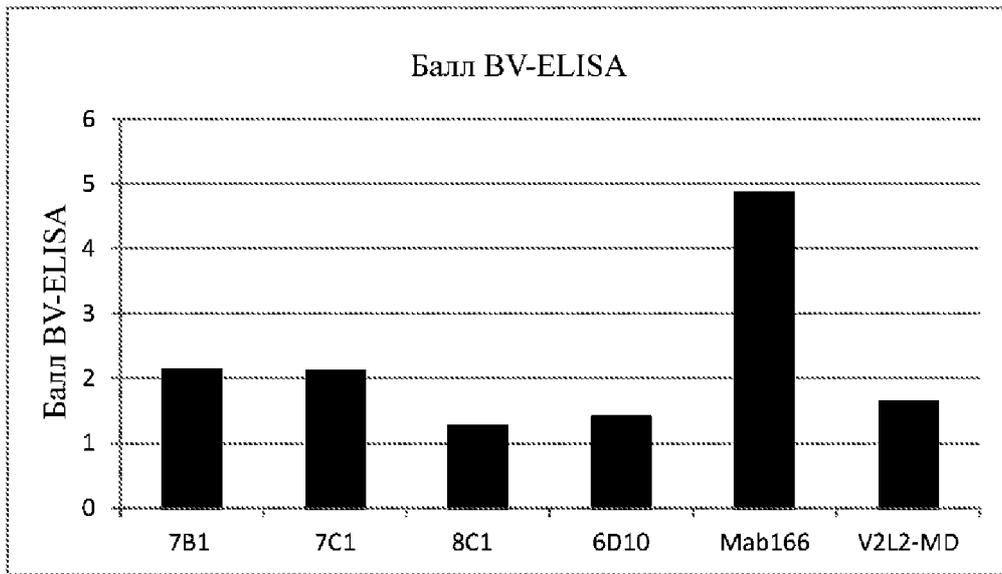


ФИГ. 2А

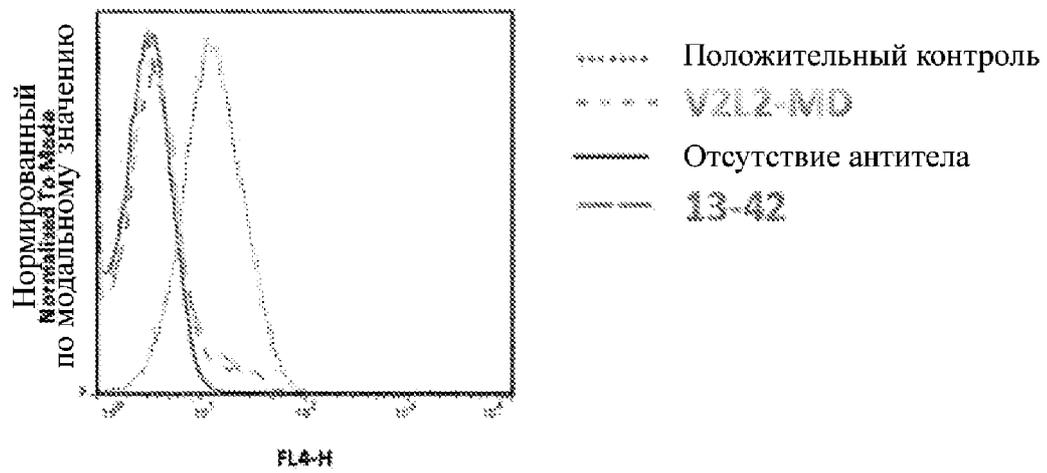
Анализ A549 СТХ



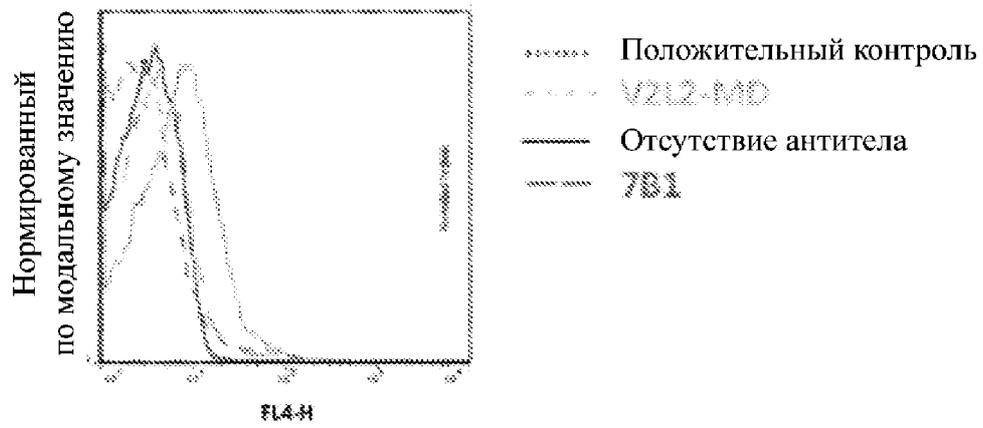
ФИГ. 2В



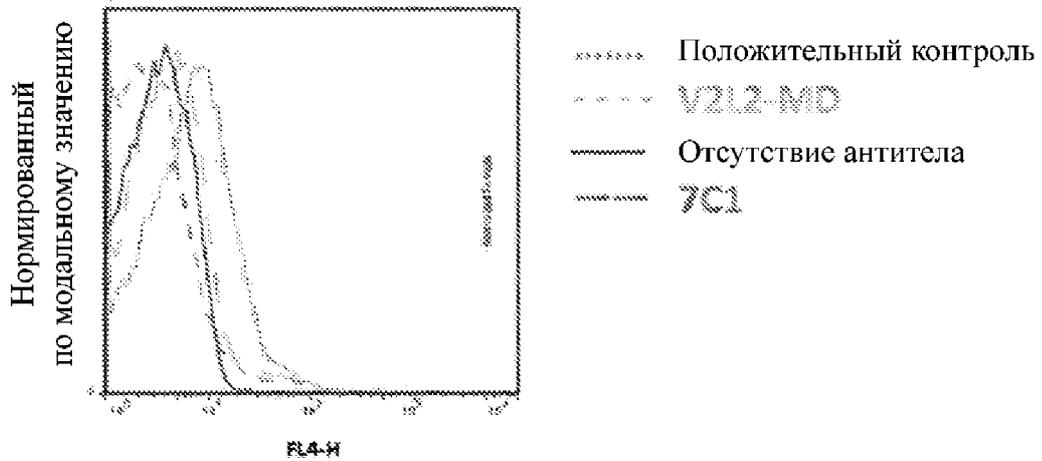
ФИГ. 3



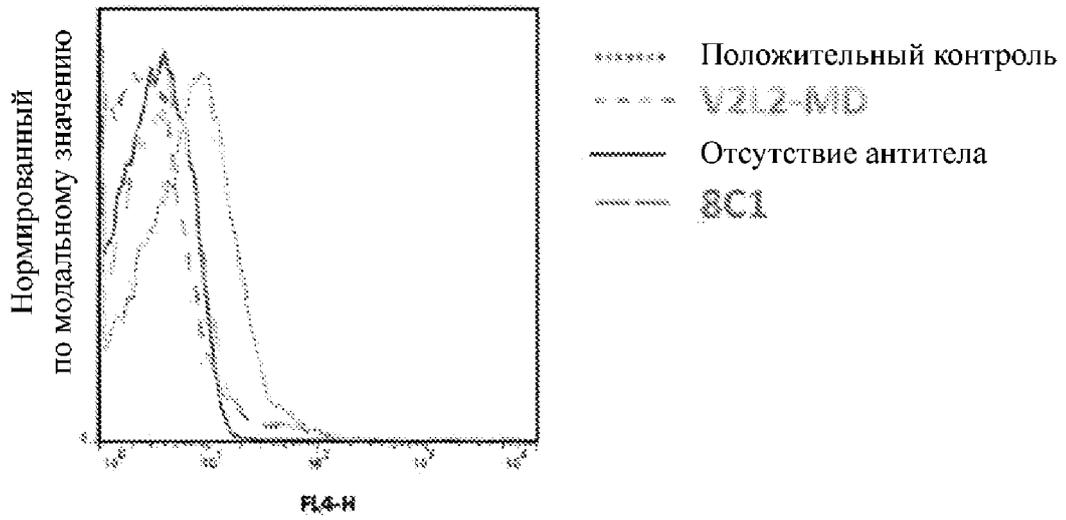
ФИГ. 4А



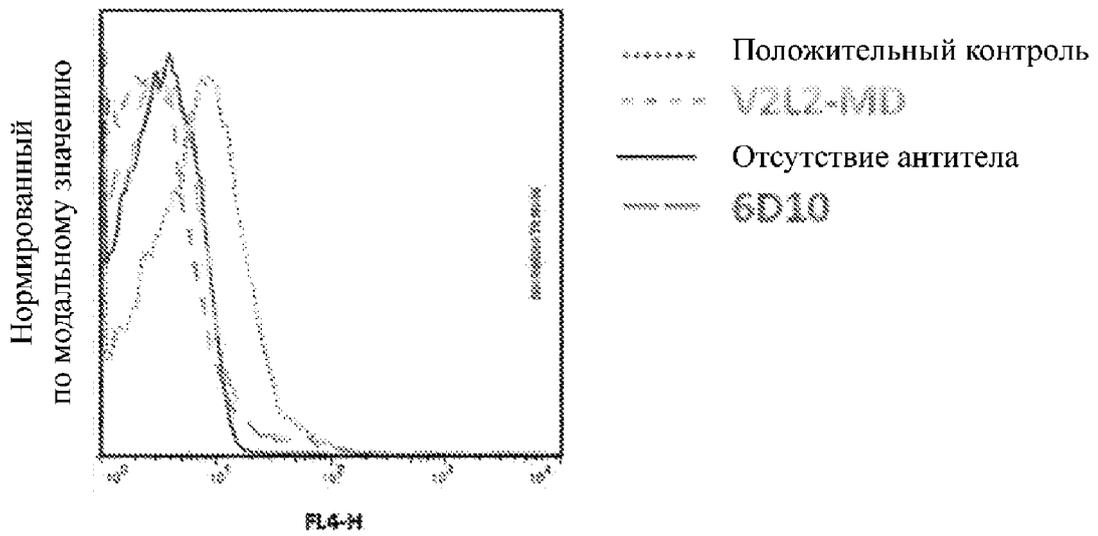
ФИГ. 4В



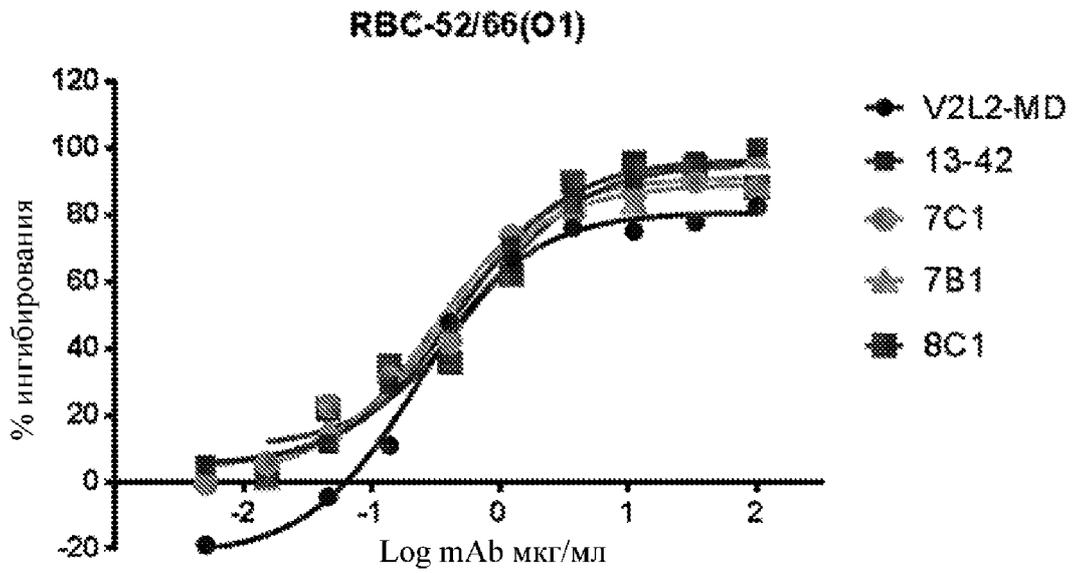
ФИГ. 4С



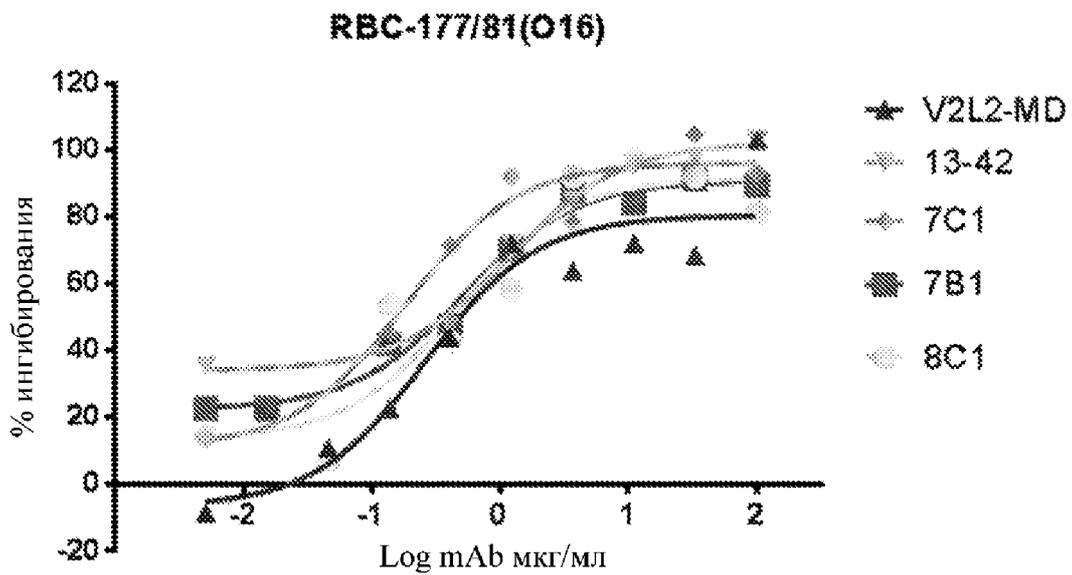
ФИГ. 4D



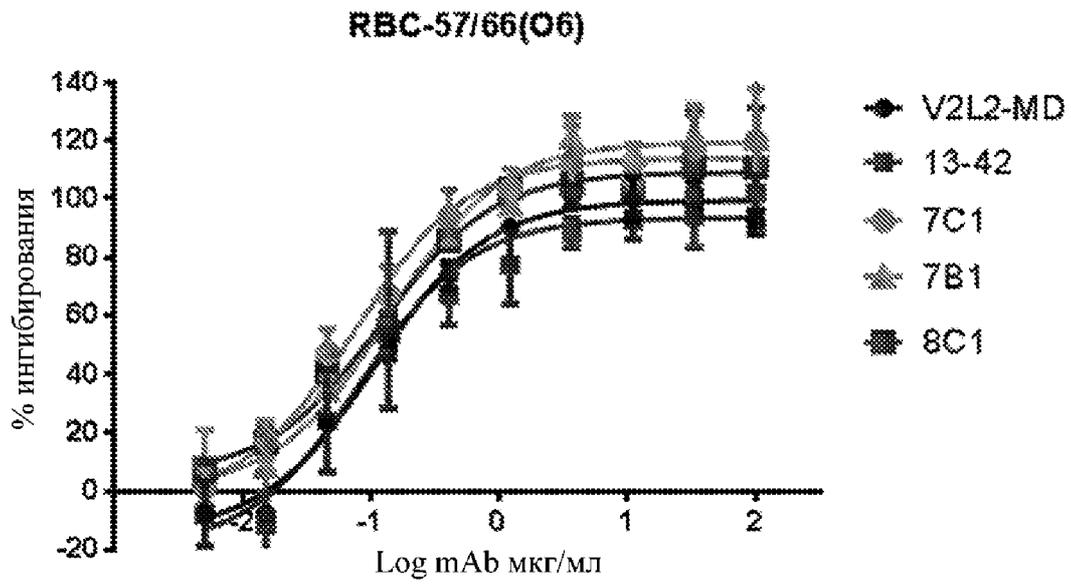
ФИГ. 4E



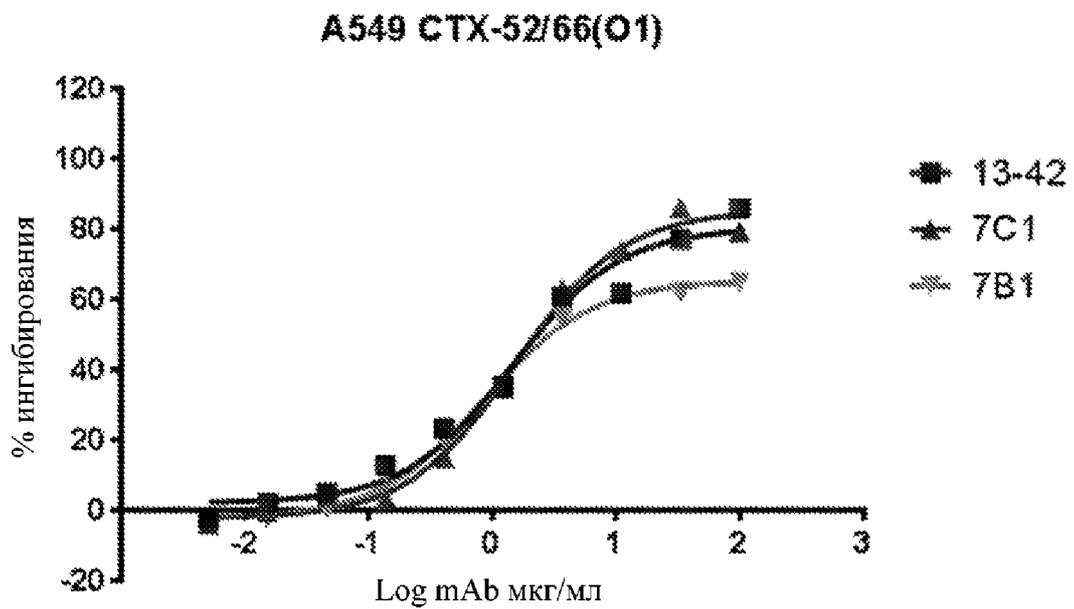
ФИГ. 5А



ФИГ. 5В

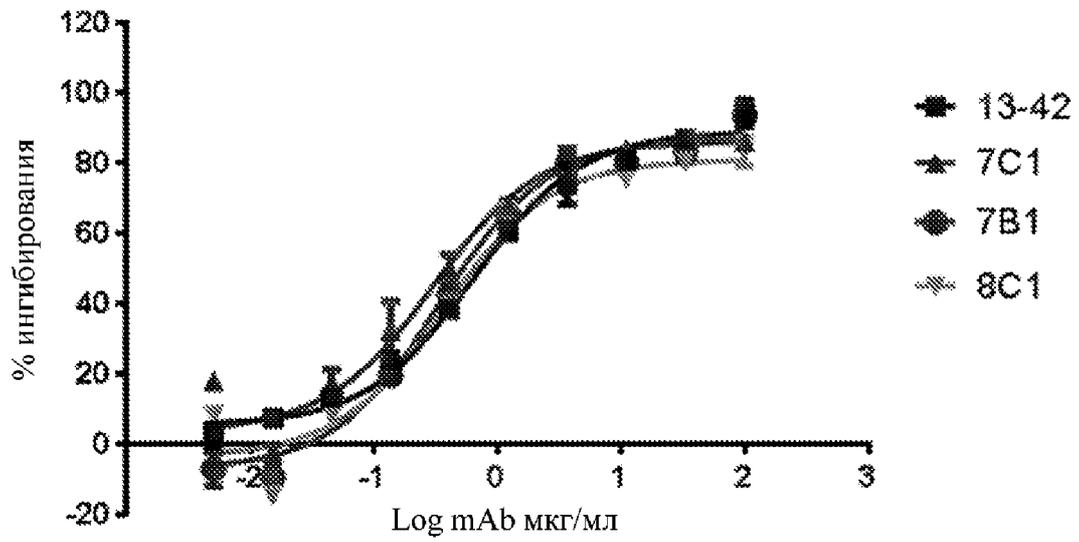


ФИГ. 5С



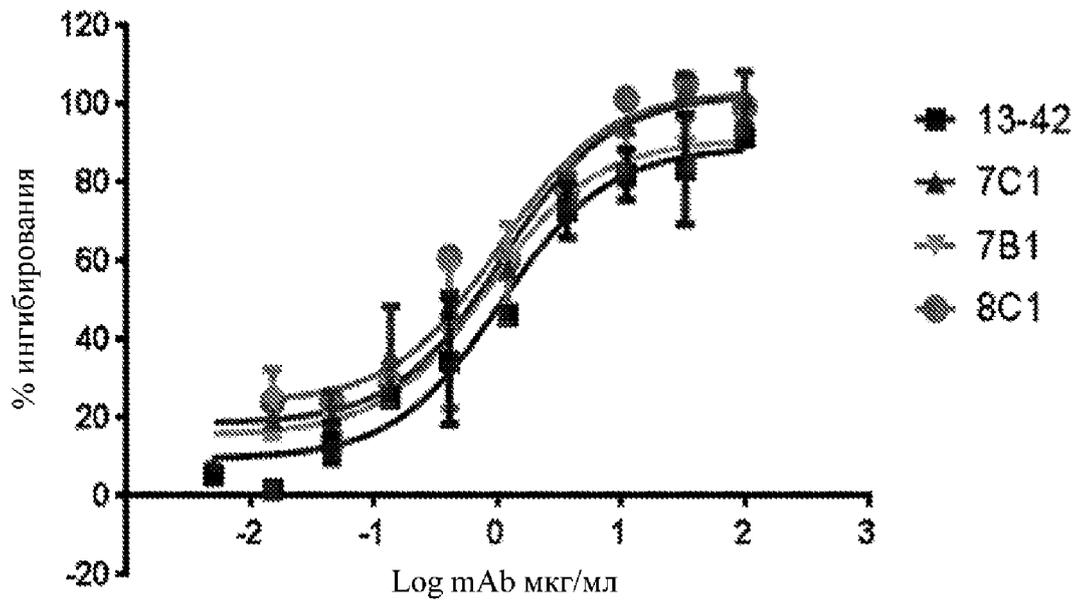
ФИГ. 6А

A549-CTX-57/66(O6)

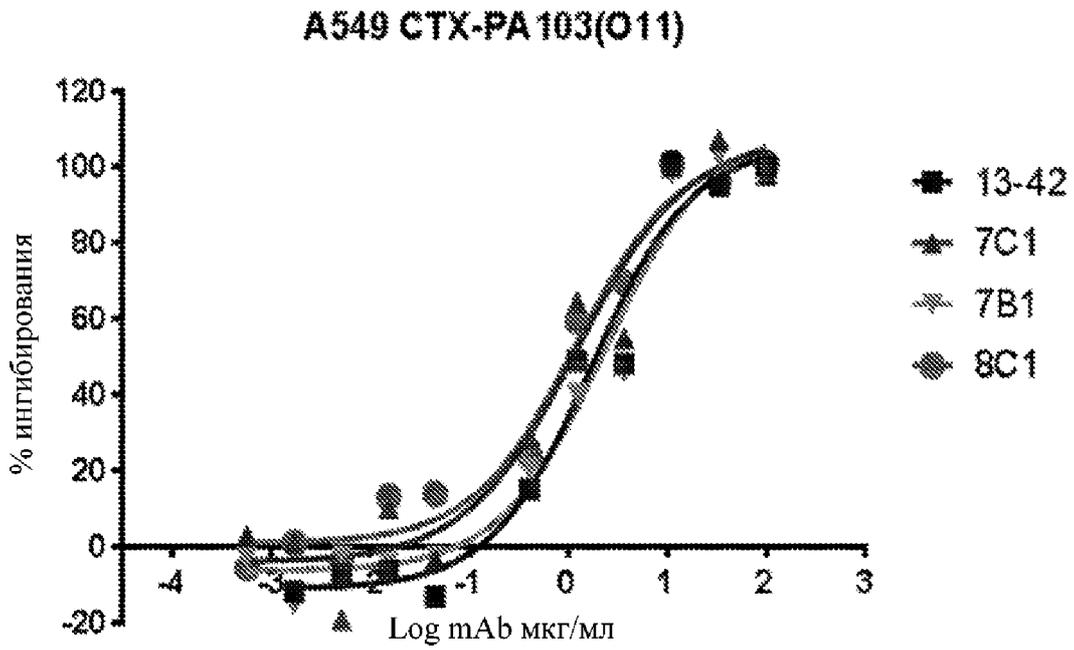


ФИГ. 6B

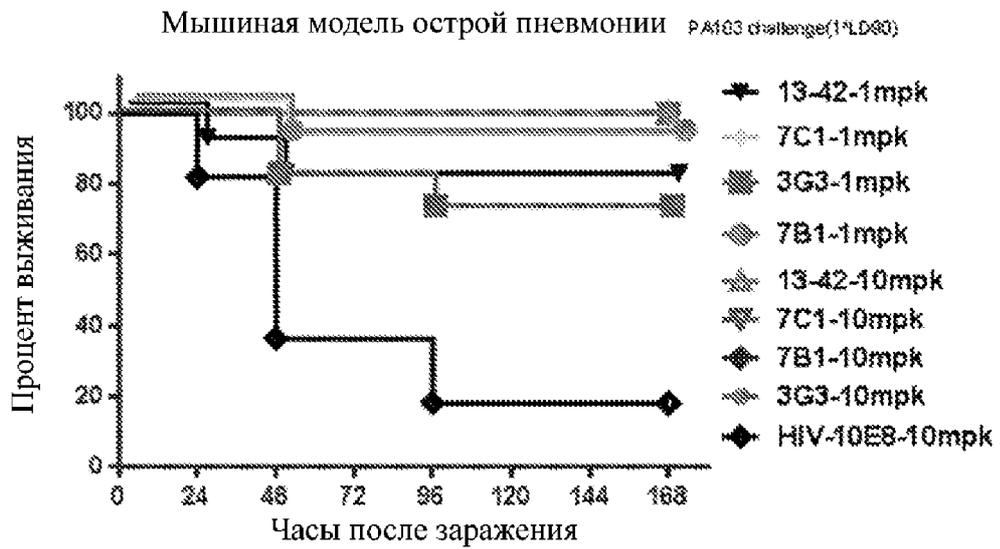
A549 CTX-177/81(O16)



ФИГ. 6C

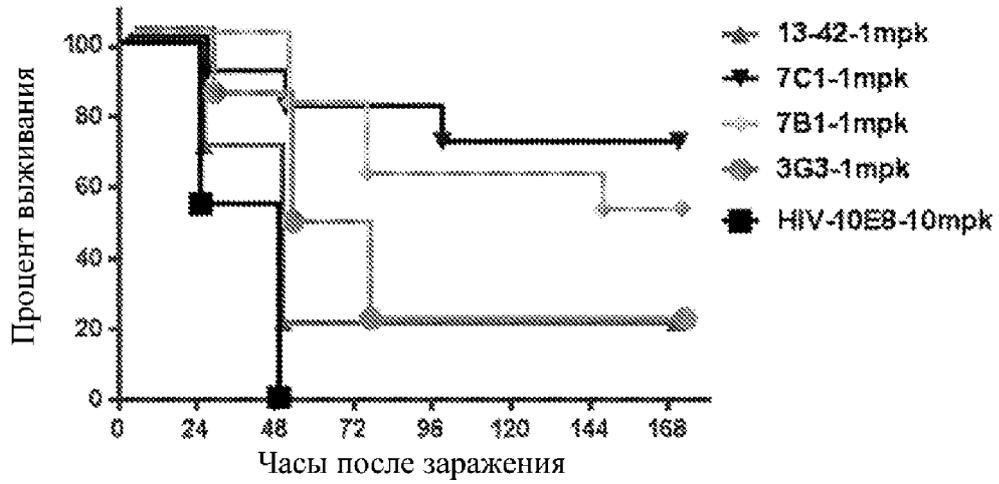


ФИГ. 6D



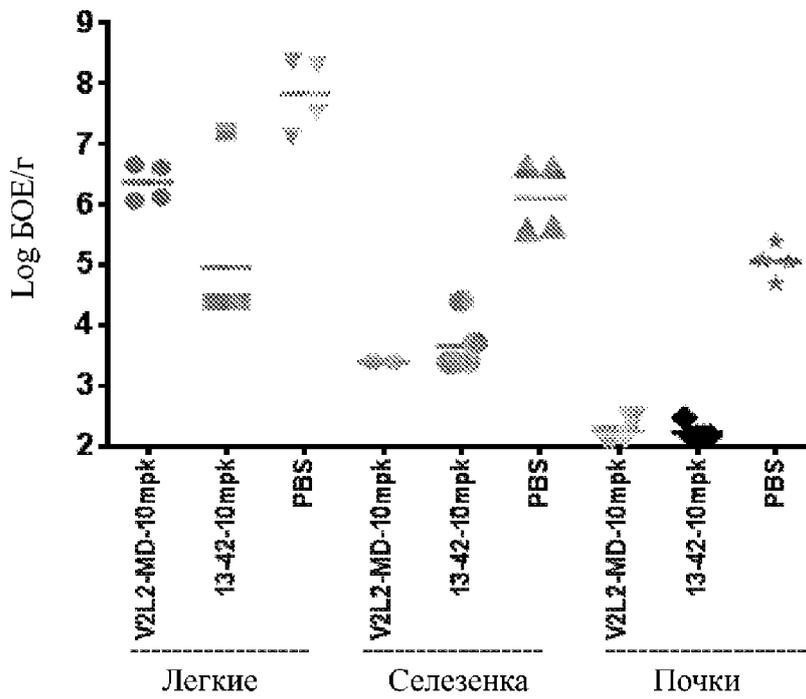
ФИГ. 7A

Мышиная модель острой пневмонии P.A103 challenge (3rd LC90)

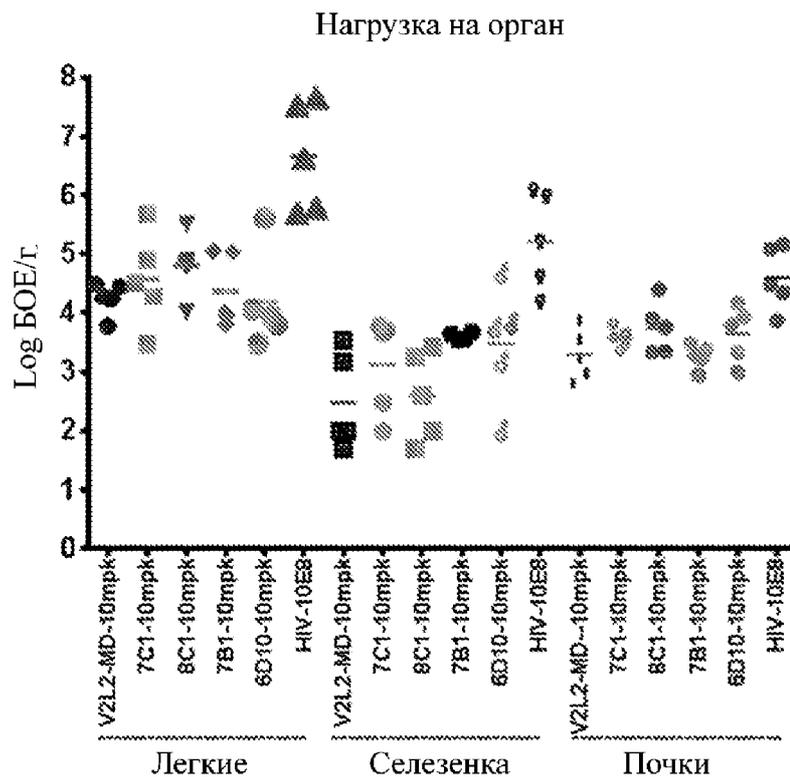


ФИГ. 7В

Нагрузка на орган

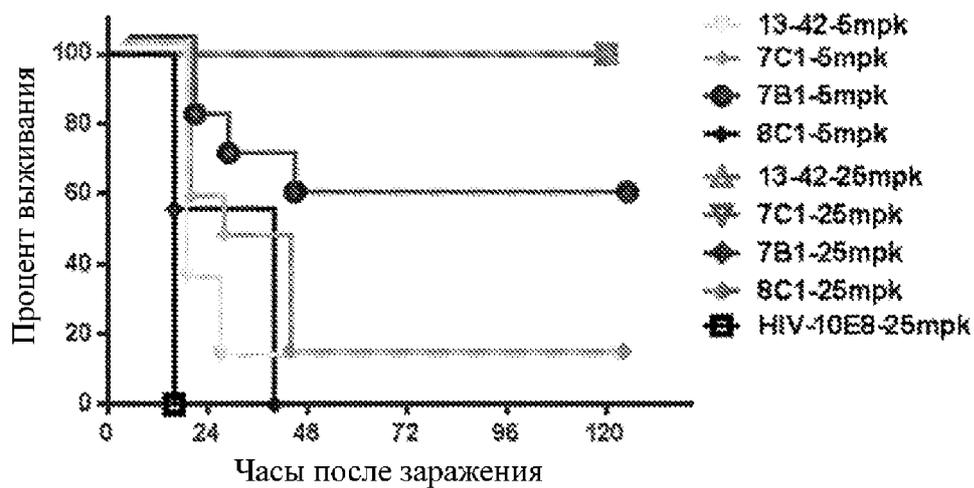


ФИГ. 8А



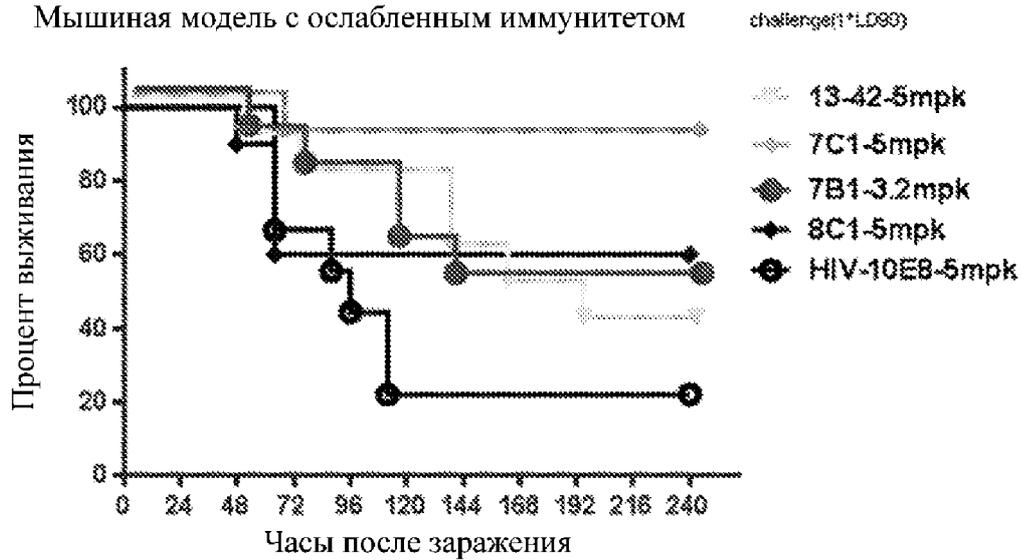
ФИГ. 8В

Мышиная модель внутрибрюшинной инфекции 57.66 challenge (3% LD₅₀)



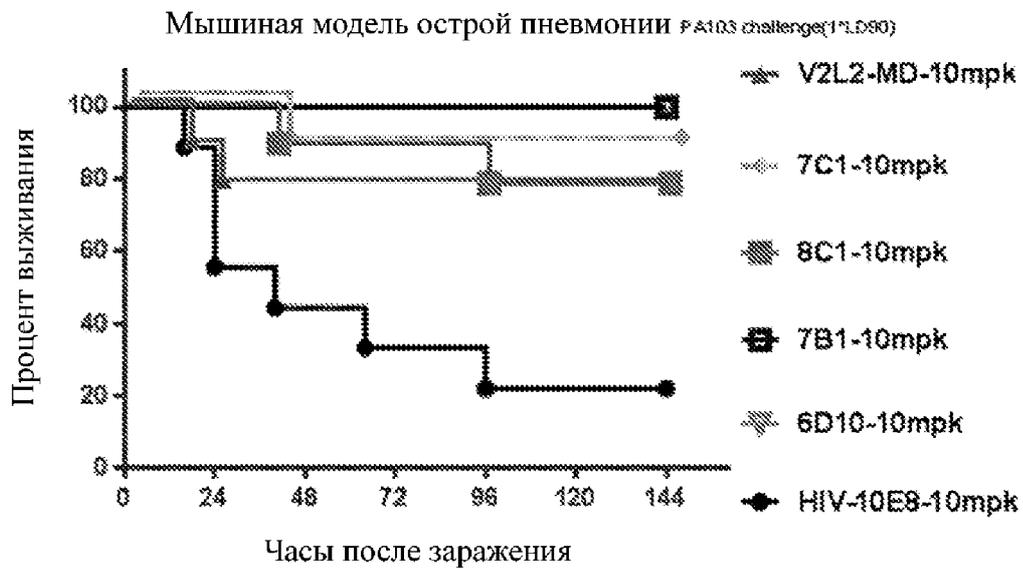
ФИГ. 9

Мышиная модель с ослабленным иммунитетом

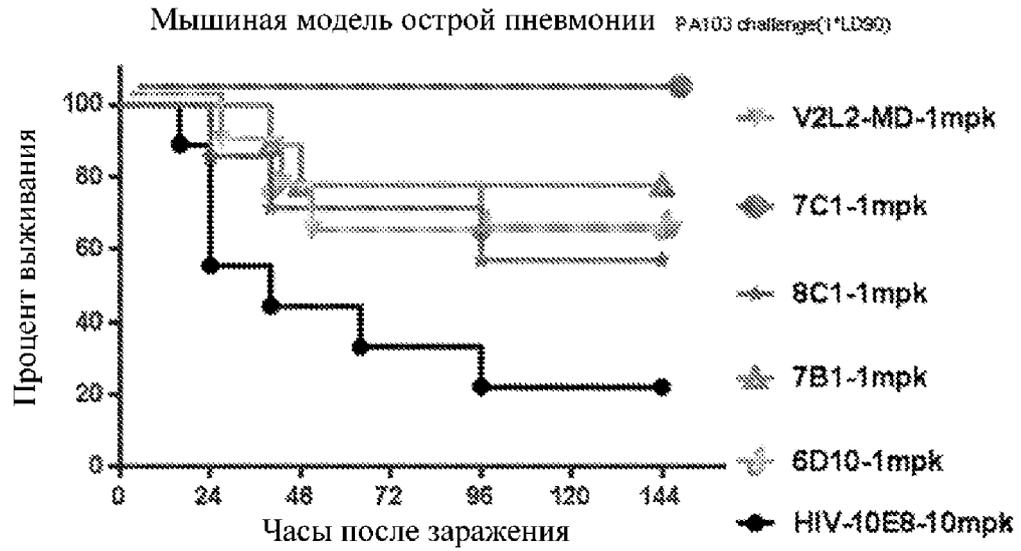


ФИГ. 10

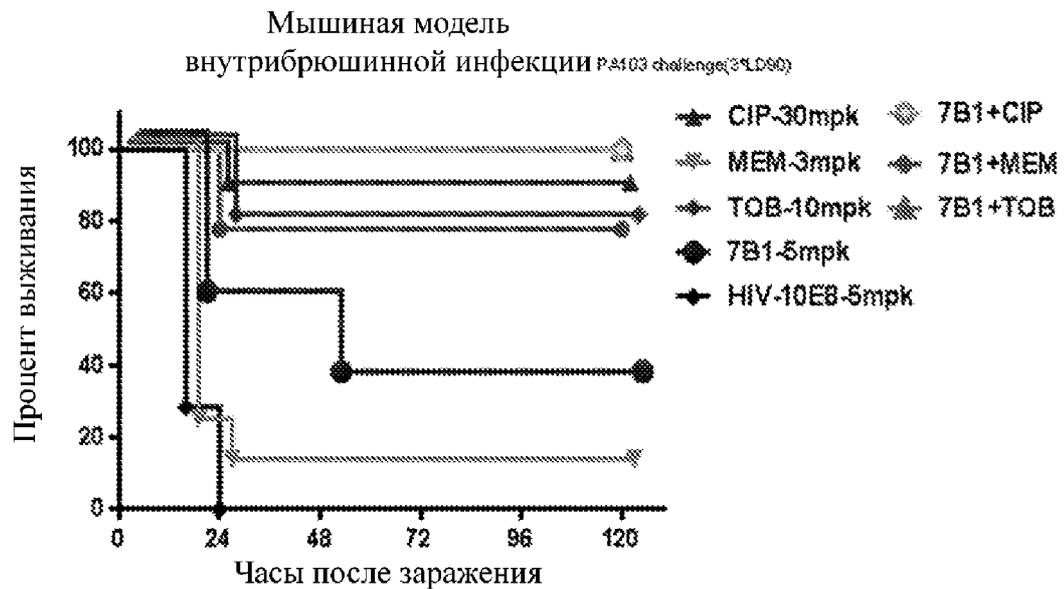
Мышиная модель острой пневмонии PA103 challenge(1*LD90)



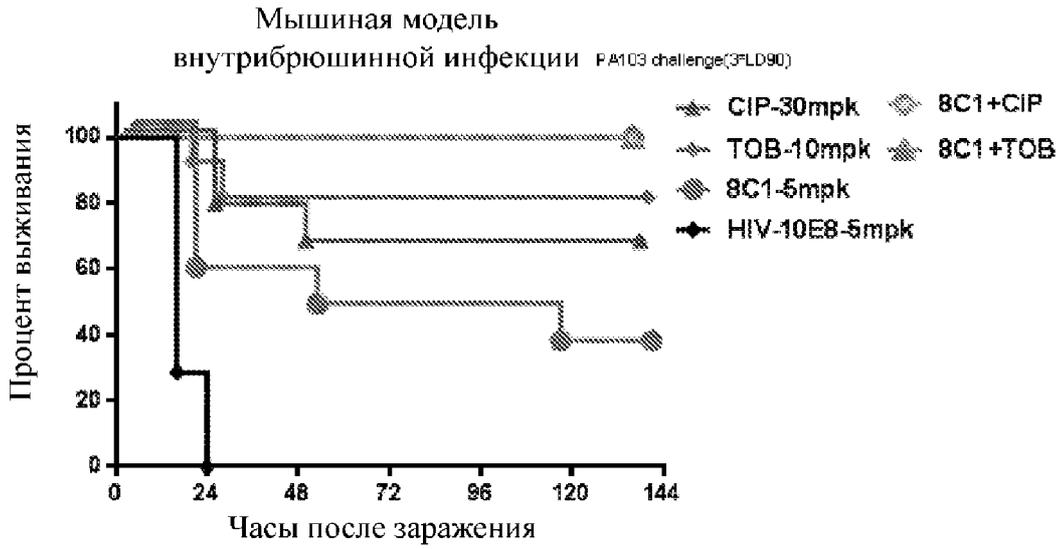
ФИГ. 11А



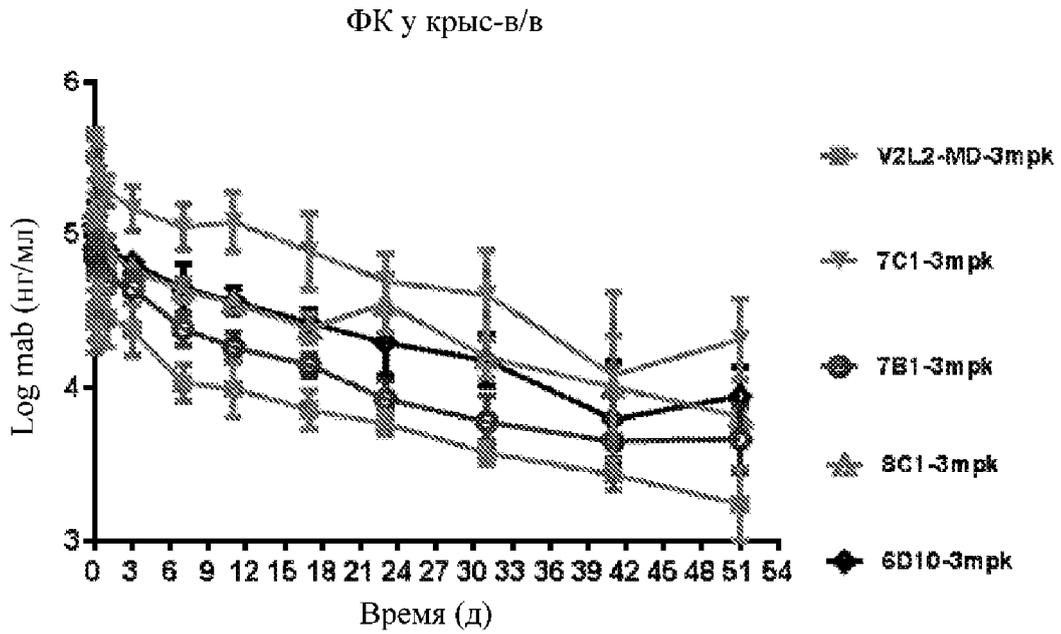
ФИГ. 11B



ФИГ. 12A

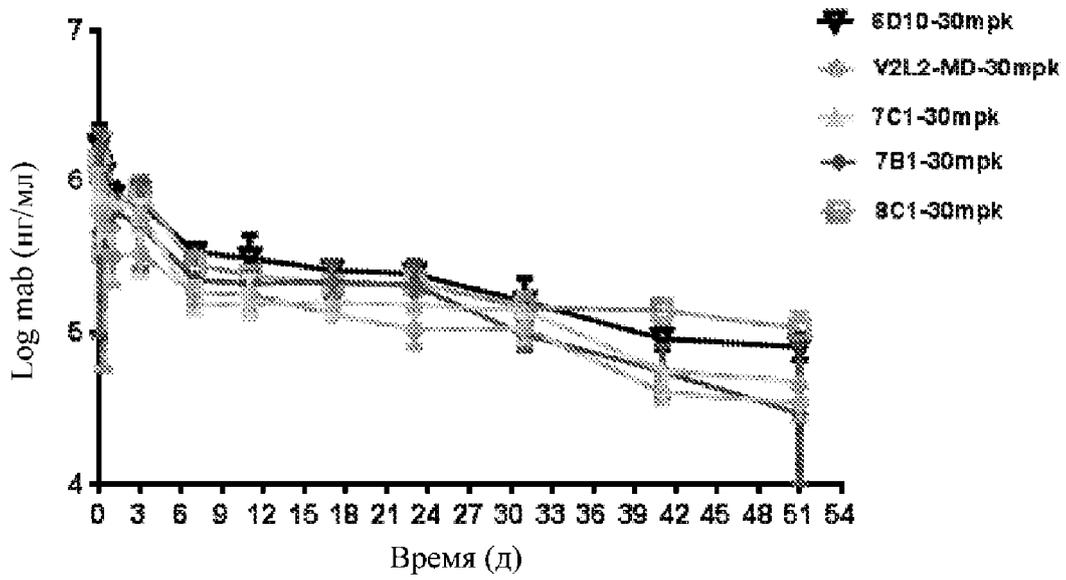


ФИГ. 12В

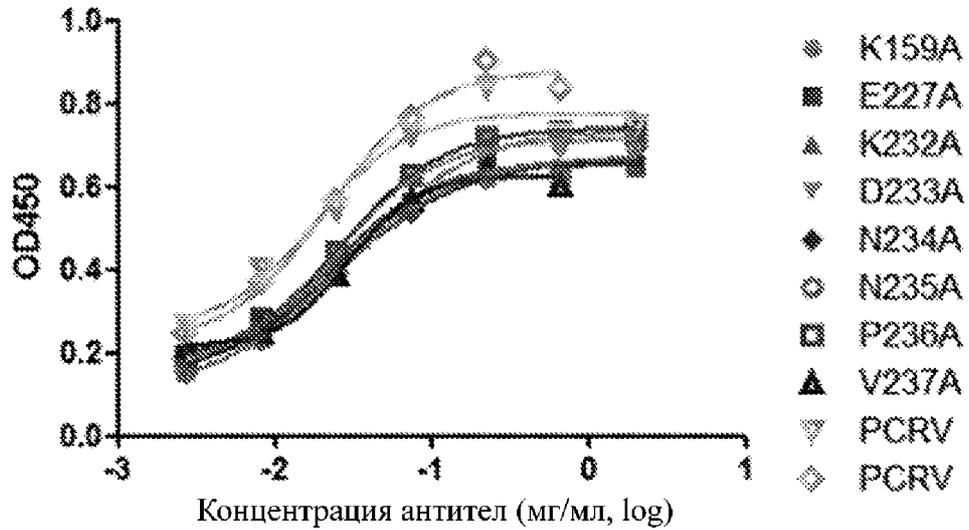


ФИГ. 13А

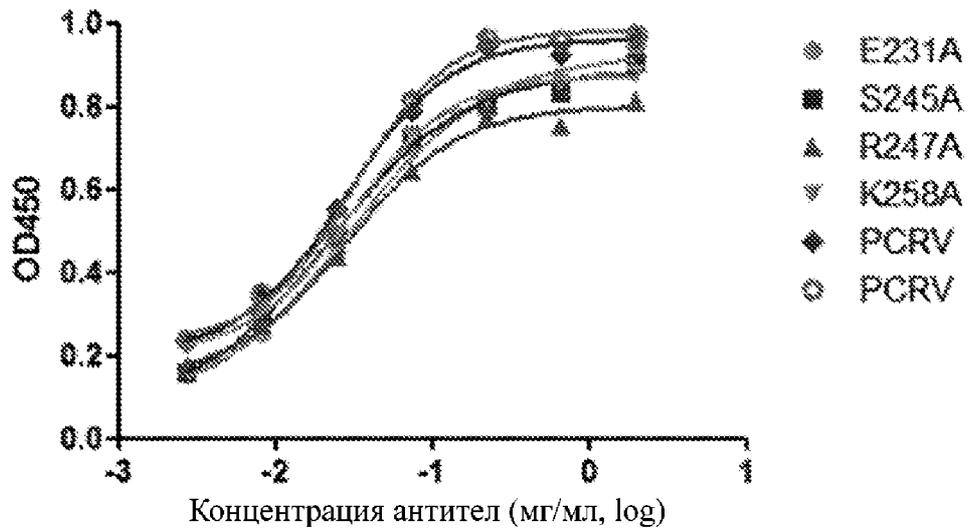
ФК у крыс-в/в



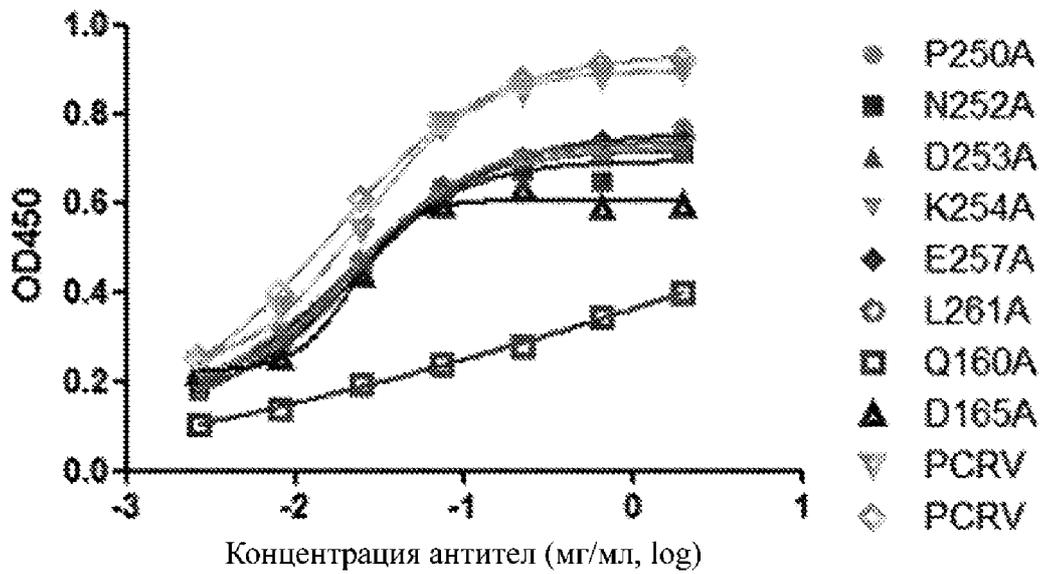
ФИГ. 13В



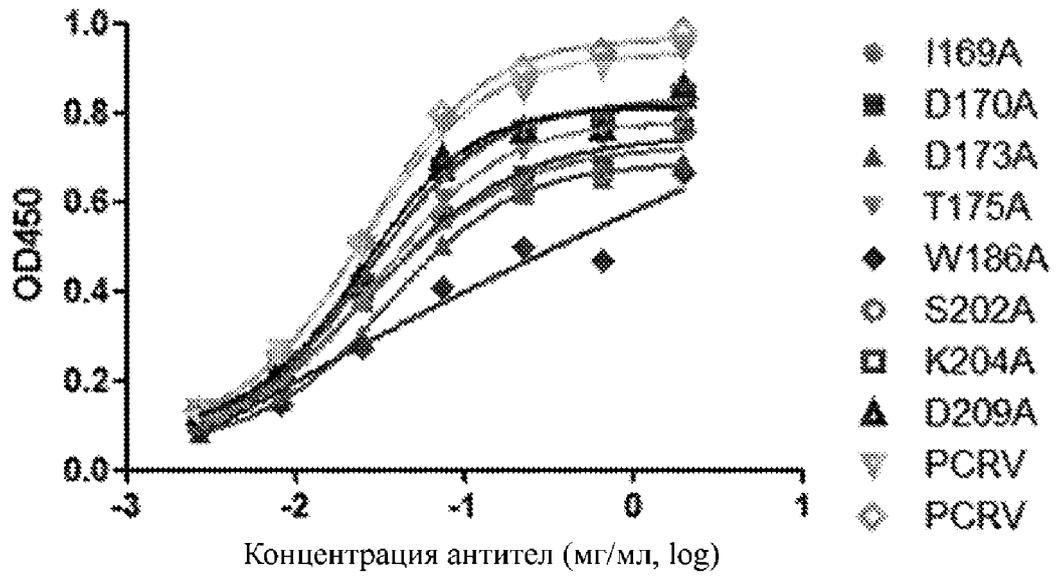
ФИГ. 14А



ФИГ. 14B



ФИГ. 14C



ФИГ. 14D