(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202290419 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.06.24

(22) Дата подачи заявки
2020.07.28

(51) Int. Cl. ***A61K 39/395*** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(54) СОСТАВЫ, СОДЕРЖАЩИЕ АНТИ-PVRIG АНТИТЕЛА, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) **62/880,021; 62/893,051; 62/930,206; 62/968,660; 62/985,702; 63/009,367**
(32) **2019.07.29; 2019.08.28; 2019.11.04; 2020.01.31; 2020.03.05; 2020.04.13**
(33) **US**
(86) **PCT/US2020/043921**
(87) **WO 2021/021837 2021.02.04**
(88) **2021.03.11**

(71) Заявитель:
КОМПЬЮДЖЕН ЛТД. (IL)

(72) Изобретатель:
Уайт Марк, Адевойе Адебойе Генри, Бакли Майкл, Лю Цзюнь, Хантер Джон, Коэн Даяг Анат (IL)

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(57) Данное изобретение направлено на анти-PVRIG антитела и стабильные жидкие фармацевтические составы из него.

Трансмембранный белок PVRIG [Homo sapiens]

Эталонная последовательность NCBI: NP 076975

1 mrteaqvpal qppepglega mghrtlvlpw vlltlcvtag tpevwvqvrm eatelssfti

61 rcgflgsgsi slvtvswggp ngaggttlav lhpergrqw aparqarwet qssislleg

121 sgasspcant tfcckfasfp egsweacgsl ppssdpglsa pptpapilra dlagilgvsg

181 vllfgcvyll hlrrhkhrp aprlqpsrts pqaprararwa psqasqaalh vpvatintsc

241 rpatldtahp hggpswwasl pthaahrpqg paawastpip argsfvsven glvaqagerp

301 phtgpgltlf pdprgprame gplgvr

(SEQ ID NO: 1)

202290419 A1

202290419 A1

СОСТАВЫ, СОДЕРЖАЩИЕ АНТИ-PVRIG АНТИТЕЛА, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

По даннай заявке испрашивается приоритет по предшествующим заявкам на патент США № 62/880021, поданной 29 июля 2019 г., 62/893051, поданной 28 августа 2019 г., 62/930206, поданной 4 ноября 2019 г., 62/968660, поданной 31 января 2020 г., 62/985702, поданной 5 марта 2020 г., и 63/009367, поданной 13 апреля 2020 г., каждая из которых включена в нстоящее описание в качестве ссылки во всей полноте.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Наивные Т-лимфоциты должны получить два независимых сигнала от антигенпрезентирующих клеток (АПК), чтобы стать успешно активированными. Первый, Сигнал 1, является антиген-специфическим и возникает, когда рецепторы антигена Т-лимфоцита взаимодействуют с соответствующим комплексом антиген-МНС на АПК. Судьба иммунного ответа определяется вторым, независимым от антигена сигналом (Сигнал 2), который доставляется посредством костимулирующей молекулы Т-лимфоцита, которая взаимодействует с АПК-экспрессируемым лигандом. Этот второй сигнал может быть либо стимулирующим (положительная костимуляция), либо ингибирующим (отрицательная костимуляция или коингибирование). В отсутствие костимулирующего сигнала, или при наличии коингибиторного сигнала, активация Т-лимфоцита нарушается или прекращается, что может привести к состоянию антиген-специфической невосприимчивости (известной как анергия Т-лимфоцита) или может привести к апоптотической гибели Т-лимфоцита.

Пары костимулирующих молекул обычно состоят из лигандов, экспрессируемых на АПК, и их родственных рецепторов, экспрессируемых на Т-лимфоцитах. Прототипами пар лиганд/рецептор костимулирующих молекул являются B7/CD28 и CD40/CD40L. Семейство B7 состоит из структурно родственных белковых лигандов клеточной поверхности, которые могут обеспечивать стимулирующее или ингибирующее воздействие на иммунный ответ. Члены семейства B7 структурно родственны внеклеточному домену, содержащему по меньшей мере один вариабельный или константный домен иммуноглобулина.

Как положительные, так и отрицательные костимулирующие сигналы играют решающую роль в регуляции клеточно-опосредованных иммунных ответов, а молекулы, которые опосредуют эти сигналы, оказались эффективными мишенями для

иммуномодуляции. На основе этих знаний было разработано несколько терапевтических подходов, которые охватывают нацеливание на костимулирующие молекулы, и было показано, что они полезны в профилактике и лечении рака путем включения или предотвращения выключения иммунных ответов у больных раком, и для профилактики и лечение аутоиммунных заболеваний и воспалительных заболеваний, и также при отторжении при аллогенной трансплантации, в каждом случае путем выключения неконтролируемых иммунных ответов или индукции «сигнала выключения» посредством отрицательной костимуляции (или коингибирования) у субъектов с этими патологическими состояниями.

Манипуляция сигналами, доставляемыми лигандами B7, продемонстрировала потенциал в лечении аутоиммунных, воспалительных заболеваний и отторжения трансплантата. Терапевтические стратегии включают в себя блокирование костимуляции, при использовании моноклональных антител к лиганду или рецептору костимулирующей пары, или при использовании растворимых гибридных белков, состоящих из костимулирующего рецептора, который может связывать и блокировать соответствующий лиганд. Другой подход заключается в индукции коингибирования, при использовании растворимого гибридного белка ингибиторного лиганда. Эти подходы основаны, по меньшей мере частично, на возможном устранении ауто- или аллореактивных Т-лимфоцитов (которые отвечают за патогенные процессы при аутоиммунных заболеваниях или трансплантации, соответственно), предположительно потому, что при отсутствии костимуляции (которая индуцирует гены выживания клеток) Т-лимфоциты становятся очень чувствительными к индукции апоптоза. Таким образом, новые агенты, которые способны модулировать костимулирующие сигналы без ущерба для способности иммунной системы защищаться от патогенов, очень полезны в лечении и профилактике таких патологических состояний.

Костимулирующие пути играют важную роль в развитии опухоли. Интересно, что опухоли избегают иммунного разрушения, препятствуя активации Т-клеток посредством ингибирования костимулирующих факторов в семействах B7-CD28 и TNF, а также привлекая регуляторные Т-клетки, которые ингибируют противоопухолевый Т-клеточный ответ (см. Wang (2006), “Immune Suppression by Tumor Specific $CD4^+$ Regulatory T cells in Cancer”, *Semin. Cancer. Biol.* 16:73-79; Greenwald, et al. (2005), “The B7 Family Revisited”, *Ann. Rev. Immunol.* 23:515-48; Watts (2005), “TNF/TNFR Family Members in Co-stimulation of T Cell Responses”, *Ann. Rev. Immunol.* 23:23-68; Sadum, et al., (2007) “Immune Signatures of Murine and Human Cancers Reveal Unique Mechanisms of Tumor Escape and New Targets for Cancer Immunotherapy”, *Clin. Canc. Res.* 13(13): 4016-4025). Такие костимулирующие

молекулы, экспрессируемые опухолью, стали привлекательными биомаркерами рака и могут служить в качестве антигенов, ассоциированных с опухолью (ААО). Кроме того, костимулирующие пути были идентифицированы как иммунологические контрольные точки, которые ослабляют иммунные ответы, зависимые от Т-лимфоцитов, как на уровне инициации, так и на уровне эффекторной функции в опухолевых метастазах. По мере того, как сконструированные противораковые вакцины продолжают совершенствоваться, становится ясно, что такие иммунологические контрольные точки являются основным препятствием для способности вакцин вызывать терапевтические противоопухолевые ответы. В этом отношении костимулирующие молекулы могут служить адъювантами для активной (вакцинация) и пассивной (антитело-опосредованной) иммунотерапии рака, предлагая стратегии для подавления иммунной толерантности и стимуляции иммунной системы.

За последнее десятилетие были разработаны агонисты и/или антагонисты различных костимулирующих белков для лечения аутоиммунных заболеваний, отторжения трансплантата, аллергии и рака. Например, CTLA4-Ig (абатацепт, Orencia®) одобрен для лечения РА (ревматоидный артрит), мутантный CTLA4-Ig (белатацепт, Nulojix®) для предотвращения острого отторжения трансплантата почки, и анти-CTLA4 антитело (ипилимумаб, Yervoy®) недавно одобрено для лечения меланомы. Были одобрены и другие регуляторы костимуляции, например, анти-PD-1 антитела от Merck (Keytruda®) и BMS (Opdivo®) были одобрены для лечения рака, а также проходят испытания для вирусных инфекций.

Одна интересная мишень представляет собой PVRIG. PVRIG представляет собой белок с трансмембранным доменом длиной 326 аминокислот, с сигнальным пептидом (охватывающим аминокислоты 1-40), внеклеточным доменом (охватывающим аминокислоты 41–171), трансмембранным доменом (охватывающим аминокислоты 172–190) и цитоплазматическим доменом (охватывающим аминокислоты 191–326). Полноразмерный белок PVRIG человека показан на Фиг. 1. Есть два метионина, которые могут быть стартовыми кодонами, но зрелые белки идентичны.

Белки PVRIG содержат домен иммуноглобулина (Ig) во внеклеточном домене, который представляет собой PVR-подобный домен складки Ig. PVR-подобный домен складки Ig может отвечать за связывание функционального аналога по аналогии с другими членами семейства B7. PVR-подобный домен складки Ig внеклеточного домена включает одну дисульфидную связь, образованную остатками цистеина внутри домена, что типично для этой складки и может быть важным для структурно-функциональной активности. Эти цистеины расположены в положениях 22 и 93 (или 94). В одном варианте

осуществления данного изобретения, предлагается растворимый фрагмент PVRIG, который можно применять для тестирования PVRIG антител. В определение белков PVRIG включены фрагменты PVRIG ECD, в том числе известные фрагменты ECD, такие как описанные в патенте США № 9714289.

PVRIG также был идентифицирован как ингибирующий рецептор, который распознает CD112, но не CD155, и он может быть вовлечен в негативную регуляцию противоопухолевых функций, опосредованных DNAM-1. PVRL2 был идентифицирован как лиганд для PVRIG при помещении PVRIG в ось иммунорецептора DNAM/TIGIT (см. Liang et al., Journal of Clinical Oncology 2017 35:15_suppl, 3074-3074).

Анти-PVRIG антитела (включая антигенсвязывающие фрагменты), которые как связываются с PVRIG, так и предотвращают активацию PVRL2 (например, чаще всего путем блокирования взаимодействия PVRIG и PVLR2), используются для усиления активации Т-лимфоцитов и/или NK-клеток, и могут применятся для лечения таких заболеваний, как рак и инфекция патогенными микроорганизмами. Таким образом, необходимы составы для введения таких антител.

Соответственно, задачей изобретения является обеспечение стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитела, или их применение для лечения заболеваний (*например*, анти-PVRIG антитела, включая и те антитела, CDR которых идентичны CDR, показанным на Фиг. 3).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Соответственно, задачей изобретения является предоставление стабильных жидких фармацевтических составов (композиций) анти-PVRIG антител, как описано в настоящей заявке.

Настоящее изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антител, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, причем указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава указанное анти-PVRIG антитело содержит CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 IgG4 (SEQ ID NO:17 или SEQ ID NO:50), при этом указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава указанное анти-PVRIG антитело содержит CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, при этом указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава указанный вариабельный домен тяжелой цепи получен из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), а указанный вариабельный домен легкой цепи получен из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO:9).

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава указанное анти-PVRIG антитело содержит CL-участок легкой цепи каппа-2 человека.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава указанный фармацевтический состав содержит от 10 мМ до 80 мМ гистидина, от 15 мМ до 70 мМ гистидина, от 20 мМ до 60 мМ гистидина, от 20 мМ до 50 мМ гистидина или от 20 мМ до 30 мМ гистидина.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный фармацевтический состав содержит около 25 мМ гистидина.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный фармацевтический состав содержит от 30 мМ до 100 мМ NaCl, от 30 мМ до 90 мМ NaCl, от 40 мМ до 80 мМ NaCl, от 30 мМ до 70 мМ гистидина или от 45 мМ до 70 мМ NaCl.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный фармацевтический состав содержит около 60 мМ NaCl.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 30 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 40 мМ до 130 мМ L-аргинина, от 50 мМ до 120 мМ L-аргинина, от 60 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 70 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 80 мМ до 110 мМ L-аргинина или от 90 мМ до 110 мМ L-аргинина.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный фармацевтический состав содержит около 100 мМ L-аргинина.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического

состава, указанный фармацевтический состав содержит от 0,006% до 0,1% масс./об. полисорбата 80, от 0,007% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,008% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,009% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80 или от 0,01% до 0,06% масс./об. полисорбата 80 или от 0,009% до 0,05% масс./об. полисорбата 80.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный фармацевтический состав содержит около 0,01% полисорбата 80.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, pH состава составляет от 6 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, pH состава составляет от 6,3 до 6,8.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный pH составляет 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанное анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 10 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 30 мг/мл, от 10 мг/мл до 25 мг/мл или от 15 мг/мл до 25 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав стабилен при температуре от 2°C до 8°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель или 10 недель.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав стабилен при температуре от около 20°C до 25°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель или 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав стабилен при температуре от 35°C до 40°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель или 5 недель.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанное анти-PVRIG антитело находится в концентрации около 20 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

а) тяжелую цепь, содержащую:

i) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, при этом VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и при этом область CH1-

шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

b) легкую цепь, содержащую:

i) VL-CL, при этом VL получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9), и при этом CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный шарнирный участок шарнира содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13).

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, причем указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, причем указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 20 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг анти-PVRIG антитела.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанное анти-PVRIG антитела вводят в дозе 20 мг/кг каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанное анти-PVRIG антитела вводят в дозе 20 мг/кг внутривенно (в/в) каждые 4 недели.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения, указанный состав вводят в дозе 20 мг/кг в/в каждые 4 недели в течение периода времени до 24 месяцев до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, начала новой противоопухолевой терапии, отзыва формы информированного согласия субъекта или смерти. В некоторых вариантах осуществления введение продолжается до 6 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев или 24 месяцев до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, начала новой противоопухолевой терапии, отзыва формы информированного согласия субъекта и/или смерти.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный стабильный жидкий фармацевтический состав вводят для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный стабильный жидкий фармацевтический состав предназначен для применения в способе лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный рак выбран из группы, состоящей из рака предстательной железы, рака печени (HCC), колоректального рака (CRC - colorectal cancer), колоректального рака MSS (MSS-CRC; включая рефрактерный колоректальный MSS), CRC (MSS неизвестный), рака

яичников (включая рак яичников), рака эндометрия (включая рак эндометрия), рака молочной железы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака щитовидной железы, рака яичек, рака уротелия, рака легких, меланомы, немеланомного рака кожи (плоскоклеточный и базально-клеточный рак), глиомы, почечно-клеточного рака (RCC - renal cell cancer), почечно-клеточной карциномы (RCC), лимфомы (неходжкинская лимфома (NHL - non-Hodgkins' lymphoma) и лимфомы Ходжкина (HD - Hodgkin's lymphoma)), острого миелоидного лейкоза (AML - Acute myeloid leukemia), Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (T-ALL), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, опухоли зародышевых клеток яичка, мезотелиомы, рака пищевода, тройного негативного рака молочной железы, рака из клеток Меркеля, MSI-высокого рака, мутантных опухолей KRAS, Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, мезотелиомы плевры, анального SCC, нейроэндокринного рака легкого (включая нейроэндокринную карциному легкого), NSCLC, NSCL (крупноклеточный), крупноклеточного NSCLC, плоскоклеточного NSCLC, SCC шейки матки, злокачественной меланомы, рака поджелудочной железы, аденокарциномы поджелудочной железы, адено-кистозного рака (включая адено-кистозную карциному), первичного рака брюшины, стабильного микросателлитного первичного рака брюшины, резистентного к платине микросателлитного стабильного первичного рака брюшины и/или миелодиспластических синдромов (MDS - Myelodysplastic syndrome).

Данное изобретение относится к применению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, при этом состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, причем указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанное анти-PVRIG антитело содержит CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 IgG4

(SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 50), при этом указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанное анти-PVRIG антитело содержит CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, при этом указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный вариабельный домен тяжелой цепи получен из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), а указанный вариабельный домен легкой цепи получен из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанное анти-PVRIG антитело содержит CL-участок легкой цепи каппа-2 антитела человека.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный фармацевтический состав содержит от 10 мМ до 80 мМ гистидина, от 15 мМ до 70 мМ гистидина, от 20 мМ до 60 мМ гистидина, от 20 мМ до 50 мМ гистидина или от 20 мМ до 30 мМ гистидина.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как описано выше, указанный фармацевтический состав содержит около 25 мМ гистидина.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный фармацевтический состав содержит от 30 мМ до 100 мМ NaCl, от 30 мМ до 90 мМ NaCl, от 40 мМ до 80 мМ NaCl, от 30 мМ до 70 мМ гистидина или от 45 мМ до 70 мМ NaCl.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный фармацевтический состав содержит около 60 мМ NaCl.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 140 мМ L-аргинина, от

30 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 40 мМ до 130 мМ L-аргинина, от 50 мМ до 120 мМ L-аргинина, от 60 мМ до 110 мМ L-аргинин, от 70 мМ до 110 мМ L-аргинин, от 80 мМ до 110 мМ L-аргинин или от 90 мМ до 110 мМ L-аргинин.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный фармацевтический состав содержит около 100 мМ L-аргинина.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный фармацевтический состав содержит от 0,006% до 0,1% масс./об. полисорбата 80, от 0,007% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,008% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,009% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80 или от 0,01% до 0,06% масс./об. полисорбата 80 или от 0,009% до 0,05% масс./об. полисорбата 80.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный фармацевтический состав содержит около 0,01% полисорбата 80.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный pH составляет от 6 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный pH составляет от 6,3 до 6,8.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный pH составляет 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанное анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 10 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 30 мг/мл, от 10 мг/мл до 25 мг/мл или от 15 мг/мл до 25 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный состав стабилен при температуре от 2°C до 8°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9

недель или 10 недель.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный состав стабилен при температуре от около 20°C до 25°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель или 6 недель.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный состав стабилен при температуре от 35°C до 40°C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель или 5 недель.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанное анти-PVRIG антитело находится в концентрации около 20 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

a) тяжелую цепь антитела, содержащую:

i) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, при этом VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и при этом область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

b) легкую цепь антитела, содержащую:

i) VL-CL, при этом VL получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9), и при этом CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

i) тяжелую цепь антитела, представляющую собой тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь антитела, представляющую собой легкую цепь из

CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13).

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, причем указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано выше, указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, причем указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как описано выше, указанный состав вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 20 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, указанный состав вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как указано

выше, указанный состав вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг анти-PVRIG антитела.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, указанное анти-PVRIG антитело вводят в дозе 20 мг/кг каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления применения в способе лечения, как указано выше, указанный состав вводят в дозе 20 мг/кг в/в каждые 4 недели.

В некоторых вариантах осуществления способа лечения, как указано выше, указанный состав вводят в/в в дозе 20 мг/кг каждые 4 недели в течение периода времени до 24 месяцев до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, начала новой противоопухолевой терапии, отзыва формы информированного согласия субъекта или смерти. В некоторых вариантах осуществления введение осуществляется до 6 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев или 24 месяцев до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, начала новой противоопухолевой терапии, отзыва формы информированного согласия субъекта и/или смерти.

В некоторых вариантах осуществления применения стабильный жидкий фармацевтический состав анти-PVRIG антитела в способе лечения рака, как кказано выше, указанный рак выбран из группы, состоящей из рака предстательной железы, рака печени (HCC), колоректального рака (CRC - colorectal cancer), колоректального рака MSS (MSS-CRC; включая рефрактерный колоректальный MSS), CRC (MSS неизвестный), рака яичников (включая рак яичников), рака эндометрия (включая рак эндометрия), рака молочной железы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака щитовидной железы, рака яичек, рака уротелия, рака легких, меланомы, немеланомного рака кожи (плоскоклеточный и базально-клеточный рак), глиомы, почечно-клеточного рака (RCC - renal cell cancer), почечно-клеточной карциномы (RCC), лимфомы (неходжкинская лимфома (NHL - non-Hodgkins' lymphoma) и лимфомы Ходжкина (HD - Hodgkin's lymphoma)), острого миелоидного лейкоза (AML - Acute myeloid leukemia), Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (T-ALL), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, опухоли зародышевых клеток яичка, мезотелиомы, рака пищевода, тройного негативного рака молочной железы, рака из клеток Меркеля, MSI-высокого рака, мутантных опухолей KRAS, Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, мезотелиомы плевры, анального SCC, нейроэндокринного рака легкого (включая нейроэндокринную карциному легкого), NSCLC, NSCL (крупноклеточный), крупноклеточного NSCLC, плоскоклеточного NSCLC, SCC шейки матки, злокачественной меланомы, рака поджелудочной железы, аденокарциномы

поджелудочной железы, аденокистозного рака (включая адено-кистозную карциному), первичного рака брюшины, стабильного микросателлитного первичного рака брюшины, резистентного к платине микросателлитного стабильного первичного рака брюшины и/или миелодиспластических синдромов (MDS - Myelodysplastic syndrome).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фиг. 1 иллюстрирует полноразмерную последовательность PVRIG человека.

Фиг. 2 иллюстрирует последовательность белка 2, относящегося к рецепторам полиовируса (PVLR2), также известного как нектин-2, CD112 или медиатор проникновения герпесвируса B (HVEB)), партнера по связыванию PVRIG. PVLR2 представляет собой гликопротеин плазматической мембраны человека.

Фиг. 3 иллюстрирует вариабельные участки тяжелой и легкой цепей, а также последовательности vhCDR1, vhCDR2, vhCDR3, vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 CHA.7.518.1.H4(S241P) по изобретению.

Фиг. 4 иллюстрирует последовательности IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека.

Фиг. 5A-5D иллюстрируют последовательности других PVRIG антител, которые могут быть включены в стабильные жидкие составы анти-PVRIG антител по данному изобретению.

Фиг. 6 иллюстрирует параметры, включая буферы и эксципиенты, для состава антитела CHA.7.518.1.H4(S241P).

Фиг. 7A-7B иллюстрируют данные для CHA.7.518.1.H4(S241P). A) Показаны стрессорные условия и условия хранения. B) Показан образец и график тестирования.

На Фиг. 8 представлены результаты визуального представления T=0 для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 9 представлены результаты T=0 A280: определение концентрации белка с использованием SoloVPE для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 10 представлены результаты LabChip T=0: определение чистоты IgG с помощью LabChip (восстановленного и невосстановленного) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 11 представлены результаты SEC при T=0: эксклюзионная хроматография для определения агрегации белка для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 12 представлены результаты cIEF T=0: определение изоэлектрической точки с использованием визуализированного анализа cIEF для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 13 представлены результаты MFI для T=0: анализ частиц с помощью MicroFluid Imaging (MFI) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 14 представлен анализ связывания T=0: ИФА активности для оценки состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 15 представлены результаты визуального представления при замораживании/оттаивании для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 16 представлены результаты замораживания/оттаивания A280: определение концентрации белка с использованием SoloVPE для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 17 представлены результаты замораживания/оттаивания LabChip: определение чистоты IgG с помощью LabChip (восстановленного и невосстановленного) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 18 представлены результаты SEC при замораживании/оттаивании: эксклюзионная хроматография для определения агрегации белка для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 19 представлены результаты cIEF при замораживании/оттаивании: определение изоэлектрической точки с использованием визуализированного анализа cIEF для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 20 представлены результаты MFI замораживания/оттаивания: анализ частиц с помощью MicroFluid Imaging (MFI) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 21 представлен анализ связывания при замораживании/оттаивании: эффективность ELISA для оценки состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 22 представлены результаты визуального представления возбуждения для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 23 представлены результаты A280 при перемешивании: определение концентрации белка с использованием SoloVPE для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 24 представлены результаты LabChip при перемешивании: определение чистоты IgG с помощью LabChip (восстановленного и невосстановленного) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 25 представлены результаты SEC при перемешивании: эксклюзионная хроматография для определения агрегации белка для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 26 представлены результаты cIEF при перемешивании: определение изоэлектрической точки с использованием визуализированного анализа cIEF для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 27 представлены результаты MFI при перемешивании: анализ частиц с помощью MicroFluid Imaging для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 28 представлен анализ связывания при перемешивании: ИФА для оценки

активности состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 29 представлены результаты визуального внешнего вида через 1 неделю при 40°C для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 30 представлены результаты A280 за 1 неделю при 40°C: определение концентрации белка с использованием SoloVPE для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 31 представлены результаты LabChip за 1 неделю при 40°C: определение чистоты IgG с помощью LabChip (восстановленного и невосстановленного) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 32 представлены результаты SEC за 1 неделю при 40°C: эксклюзионная хроматография для определения агрегации белка для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 33 представлены результаты cIEF за 1 неделю при 40°C: определение изоэлектрической точки с использованием визуализированного анализа cIEF для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 34 представлены результаты MFI за 1 неделю при 40°C: анализ частиц с помощью MicroFluid Imaging для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 35 представлен анализ связывания в течение 1 недели при 40°C: эффективность ИФА для оценки CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 36 представлены результаты визуального представления через 2 недели при 40°C для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 37 представлены результаты A280 через 2 недели при 40 °C: определение концентрации белка с использованием SoloVPE для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 38 представлены результаты 2-недельного LabChip при 40°C: определение чистоты IgG с помощью LabChip (восстановленного и невосстановленного) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 39 представлены результаты SEC через 2 недели при 40 °C: эксклюзионная хроматография для определения агрегации белка для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 40 представлены результаты cIEF за 2 недели при 40°C: определение изоэлектрической точки CHA.7.518.1.H4(S241P) с использованием визуализированного анализа cIEF для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 41 представлены результаты 2-недельного MFI при 40 °C: анализ частиц с помощью MicroFluid Imaging для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 42 представлен 2-недельный анализ связывания при 40°C: эффективность ИФА для оценки CHA.7.518.1.H4(S241P) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 43 представлены результаты визуального представления в условиях окружающей среды через 2 недели для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 44 представлены результаты A280 в условиях окружающей среды в течение 2 недель: определение концентрации белка с использованием SoloVPE для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 45 представлены результаты LabChip в условиях окружающей среды в течение 2 недель: определение чистоты IgG с помощью LabChip (восстановленного и невосстановленного) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 46 представлены результаты SEC в условиях окружающей среды в течение 2 недель при комнатной температуре: эксклюзионная хроматография для определения агрегации белка для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 47 представлены результаты cIEF в условиях окружающей среды в течение 2 недель: определение изоэлектрической точки CHA.7.518.1.H4(S241P) с использованием визуализированного анализа cIEF для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 48 представлены результаты MFI в условиях окружающей среды за 2 недели: анализ частиц с помощью MicroFluid Imaging для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 49 представлен анализ связывания в условиях окружающей среды в течение 2 недель: ИФА для оценки активности CHA.7.518.1.H4(S241P) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 50 представлены результаты визуального внешнего вида в условиях окружающей среды в течение 4 недель для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 51 представлены результаты A280 в условиях окружающей среды в течение 4 недель: определение концентрации белка с использованием SoloVPE для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 52 представлены результаты LabChip в условиях окружающей среды в течение 4 недель: определение чистоты IgG с помощью LabChip (восстановленного и невосстановленного) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 53 представлены результаты SEC в условиях окружающей среды в течение 4 недель при комнатной температуре: эксклюзионная хроматография для определения агрегации белка для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 54 представлены результаты cIEF в условиях окружающей среды за 4 недели: определение изоэлектрической точки с использованием визуализированного анализа cIEF для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 55 представлены результаты MFI в условиях окружающей среды в течение 4 недели: анализ частиц с помощью MicroFluid Imaging для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 56 представлен анализ связывания в условиях окружающей среды в

течение 4 недель: ИФА для оценки активности состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 57 представлены результаты визуального представления в течение 2 недель при 2-8 °C для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 58 представлены результаты A280 в течение 2 недель при 2-8°C: определение концентрации белка с использованием SoloVPE для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 59 представлены результаты LabChip в течение 2 недель при 2-8 °C: определение чистоты IgG с помощью LabChip (восстановленного и невосстановленного) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 60 представлены результаты SEC в течение 2 недель при 2-8°C: эксклюзионная хроматография для определения агрегации белка для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 61 представлены результаты cIEF в течение 2 недель при 2-8°C: определение изоэлектрической точки CHA.7.518.1.H4(S241P) с использованием визуализированного анализа cIEF.

На Фиг. 62 представлены результаты MFI в течение 2 недель при 2-8°C: анализ частиц с помощью MicroFluid Imaging для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 63 представлен анализ связывания в течение 2 недель при 2-8°C: ИФА для оценки активности состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 64 представлены результаты визуального представления в течение 4 недель при 2-8°C для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 65 представлены результаты A280 в течение 4 недель при 2-8°C: определение концентрации белка с использованием SoloVPE для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 66 представлены результаты LabChip в течение 4 недель при 2-8 °C: определение чистоты IgG с помощью LabChip (восстановленного и невосстановленного) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 67 представлены результаты SEC в течение 4 недель при 2-8°C: эксклюзионная хроматография для определения агрегации белка для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 68 представлены результаты cIEF в течение 4 недель при 2-8°C: определение изоэлектрической точки с использованием визуализированного анализа cIEF для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 69 представлены результаты MFI в течение 4 недель при 2-8°C: анализ частиц с помощью MicroFluid Imaging для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 70 представлен анализ связывания в течение 4 недель при 2-8°C: ИФА для оценки активности состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 71 представлены результаты визуального представления в течение 8 недель при 2-8°C для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 72 представлены результаты A280 в течение 8 недель при 2-8°C: определение концентрации белка с использованием SoloVPE для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 73 представлены результаты LabChip в течение 8 недель при 2-8°C: определение чистоты IgG с помощью LabChip (восстановленного и невосстановленного) для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 74 представлены результаты SEC в течение 8 недель при 2-8°C: эксклюзионная хроматография для определения агрегации белка для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 75 представлены результаты cIEF в течение 8 недель при 2-8°C: определение изоэлектрической точки с использованием визуализированного анализа cIEF для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 76 представлены результаты MFI в течение 8 недель при 2-8°C: анализ частиц с помощью MicroFluid Imaging для состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 77 представлен анализ связывания в течение 8 недель при 2-8°C: ИФА для оценки активности состава CHA.7.518.1.H4(S241P).

На Фиг. 78 представлены данные, показывающие заполняемость рецепторов при различных дозировках CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13).

На Фиг. 79 представлены данные, показывающие заполняемость рецепторов при различных дозировках CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13).

На Фиг. 80 представлены данные, показывающие, что PVRIG представляет собой новую контрольную точку в TIGIT/DNAM-1 AXIS.

На Фиг. 81 представлены данные, показывающие, что ингибирование PVRIG снижает рост опухоли в моделях рака у мышей.

На Фиг. 82 представлена схема дизайна исследования.

На Фиг. 83 представлена информация об исходных характеристиках пациента.

На Фиг. 84 представлена информация о назначении лечения для пациента.

На Фиг. 85 представлена информация о побочных явлениях, возникающих при лечении.

На Фиг. 86 представлена информация о серьезных побочных явлениях, возникающих при лечении.

На Фиг. 87 представлен график типа «дорожек бассейна» данных пациента.

На Фиг. 88 представлена каскадная диаграмма данных пациента.

На Фиг. 89 представлена информация о пациентах со стабильным заболеванием и зависимости доза-ответ.

На Фиг. 90 представлена лучшая информация об ответе на лечение в момент времени для пациентов с резистентным к лечению заболеванием.

На Фиг. 91 представлен график данных дозировки лечения.

На Фиг. 92 представлены данные о взаимодействии PVRIG с анти-PVRIG с использованием анализа занятости рецептора.

На Фиг. 93 представлены данные о базовых характеристиках пациента.

На Фиг. 94 представлено описание о расположении пациентов.

На Фиг. 95 показана схема повышения дозы.

На Фиг. 96 представлено описание побочных явлений – набор анализов безопасности.

На Фиг. 97 представлено описание серьезных побочных явлений, приведших к прекращению исследуемого лечения (группа A).

На Фиг. 98 представлена частота побочных явлений, возникших после лечения (TEAE) у ≥3 пациентов — монотерапия.

На Фиг. 99 представлена частота TEAE у ≥3 пациентов — комбинированная терапия.

На Фиг. 100 представлена частота серьезных TEAE у всех пациентов - монотерапия (n = 18).

На Фиг. 101 представлена частота серьезных TEAE у всех пациентов — комбинация (n = 13).

На Фиг. 102 представлен фармакокинетический профиль CHA.7.518.1.H4(S241P) после внутривенной инфузии в цикле 1, день 1 — группы A и B.

На Фиг. 103 представлено описание ответа, оцененного исследователем (на популяцию, поддающуюся оценке recist v1.1 dlt) для групп A и B.

На Фиг. 104A-104B представлены графики типа «дорожек бассейна» для данных из групп A и B. Сводный график представлен на Фиг. 105C.

На Фиг. 105 представлена каскадная диаграмма данных из групп A и B.

На Фиг. 106 представлены данные, касающиеся CHA.7.518.1.H4(S241P) + ниволумаб — подтвержденный PR у пациента с MSS (микросателлитный стабильный

статус) колоректального рака (продолжающееся лечение в течение 44 недель).

На Фиг. 107 представлены данные относительно монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) – подтвержденный PR у пациента с MSS (микросателлитный стабильный статус) с резистентным к платине первичным раком брюшины, продолжающееся исследование, лечение 25 недель.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

I. ВВЕДЕНИЕ

Рак можно рассматривать как неспособность организма пациента распознавать и устранять раковые клетки. Во многих случаях эти трансформированные (например, раковые) клетки противодействуют иммунному надзору. Существуют естественные механизмы контроля, которые ограничивают активацию Т-лимфоцитов в организме для предотвращения неограниченной активности Т-лимфоцитов, которые могут использоваться раковыми клетками для уклонения или подавления иммунного ответа. Цель иммунотерапии - восстановить способность иммунных эффекторных клеток, особенно Т-лимфоцитов, распознавать и устранять рак. Область иммуноонкологии, которую иногда называют «иммунотерапией», быстро развивается, и в последнее время одобрено несколько антител, ингибирующих Т-лимфоциты, таких как Ервой, Кейтруда и Опдиво. Эти антитела обычно называют «ингибиторами контрольных точек», поскольку они блокируют в норме негативные регуляторы Т-клеточного иммунитета. Как правило, считается, что различные иммуномодулирующие сигналы, как костимулирующие, так и коингибирующие, могут применяться для получения оптимального антигенспецифического иммунного ответа. Как правило, эти антитела связываются с белками-ингибиторами контрольных точек, такими как CTLA-4 и PD-1, которые в нормальных условиях предотвращают или подавляют активацию цитотоксических Т-клеток (CTL). За счет ингибирования белка контрольной точки, например, в результате применения антител, которые связывают эти белки, может быть достигнут повышенный противоопухолевый ответ Т-лимфоцитов. То есть эти раковые белки контрольной точки подавляют иммунный ответ; когда белки блокируются, например, с помощью антител к белку контрольной точки, иммунная система активируется, что приводит к иммуностимуляции и возникает возможность лечить такие патологии, как рак и инфекционные заболевания.

Данное изобретение направлено на составы, содержащие антитела к белку, содержащему домен иммуноглобулина, связанный с рецептором полиовируса человека, или «PVRIG», иногда также называемому в настоящем описании «белком PV». «PVRIG» экспрессируется на клеточной поверхности НК- и Т-клеток и имеет несколько сходств с

другими известными иммунными контрольными точками.

Соответственно, данное изобретение относится к составам, содержащим антитела, включая антигенсвязывающие домены, которые связываются с PVRIG человека и его пептидами, и способам активации Т-клеток и/или NK-клеток для лечения таких заболеваний, как рак и инфекционные заболевания, и других состояний, при которых повышенная иммунная активность приводит к излечению. В частности, изобретение относится к составам, содержащим антитела, содержащие тяжелые и легкие цепи, а также последовательности vhCDR1, vhCDR2, vhCDR3, vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из CHA.7.518.1.H4(S241P). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитела включают антитела с CDR, идентичными CDR, показанным на Фиг. 3. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитела содержат CDR, идентичные CDR, показанным на Фиг. 5A-5D, а также анти-PVRIG антитела, содержащие тяжелые и легкие цепи, как показано на Фиг. 5A-5D.

II. БЕЛКИ PVRIG

Настоящее изобретение относится к составам, содержащим антитела, которые специфически связываются с белками PVRIG. Термин «белок» в данном контексте используется взаимозаменяемо с понятием «полипептид» и также охватывает пептиды. Настоящее изобретение относится к антителам, которые специфически связываются с белками PVRIG. PVRIG представляет собой белок с трансмембранным доменом длиной 326 аминокислот, с сигнальным пептидом (охватывающим аминокислоты 1-40), внеклеточным доменом (охватывающим аминокислоты 41–171), трансмембранным доменом (охватывающим аминокислоты 172–190) и цитоплазматическим доменом (охватывающим аминокислоты 191–326). Полноразмерный белок PVRIG человека показан на Фиг. 1. Есть два метионина, которые могут быть стартовыми кодонами, но зрелые белки идентичны.

Соответственно, в контексте настоящей заявки, термин «PVRIG», «белок PVRIG» или «полипептид PVRIG» может необязательно включать в себя любой такой белок или его варианты, конъюгаты или фрагменты, включая, но не ограничиваясь лишь известными типами PVRIG или диким типом, как описано в настоящей заявке, а также любые встречающиеся в природе варианты сплайсинга, аминокислотные варианты или изоформы и, в частности, фрагмент ECD PVRIG. Термин «растворимая» форма PVRIG также используется взаимозаменяемо с терминами «растворимый эктодомен (ECD)» или «эктодомен» или «внеклеточный домен (ECD)», а также «фрагменты полипептидов PVRIG», которые могут относиться в целом к одному или более из следующих необязательных полипептидов.

Белки PVRIG содержат домен иммуноглобулина (Ig) во внеклеточном домене, который представляет собой PVR-подобный домен складки Ig. PVR-подобный домен складки Ig может отвечать за связывание функционального аналога по аналогии с другими членами семейства B7. PVR-подобный домен складки Ig внеклеточного домена включает одну дисульфидную связь, образованную остатками цистеина внутри домена, что типично для этой складки и может быть важным для структурно-функциональной активности. Эти цистеины расположены в положениях остатков 22 и 93 (или 94). В одном варианте осуществления данного изобретения, предлагается растворимый фрагмент PVRIG, который можно применять для тестирования PVRIG антител. В определение белков PVRIG включены фрагменты PVRIG ECD, включая известные фрагменты ECD, такие как описанные в патенте США № 9714289, которые полностью включены в настоящее описание в качестве ссылки для всех целей.

Как отмечено в настоящем описании и более подробно раскрыто ниже, анти-PVRIG антитела (включая антигенсвязывающие фрагменты), которые как связываются с PVRIG, так и предотвращают активацию PVRL2 (например, чаще всего путем блокирования взаимодействия PVRIG и PVLR2), используются для усиления активации Т-лимфоцитов и/или NK-клеток, и могут применятся для лечения таких заболеваний, как рак и инфекция патогенными микроорганизмами.

III. АНТИТЕЛА

Соответственно, изобретение относится к анти-PVRIG антителам, которые могут быть использованы в составах, описанных в настоящей заявке, и представленным на Фиг. 3 (*например*, включая анти-PVRIG антитела, в том числе с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3). PVRIG, также называемый белком Q6DKI7 или C7orf15, относящимся к полиовирусным рецепторам, содержащим иммуноглобулиновый домен, соответствует аминокислотной и нуклеотидной последовательностям с номером доступа RefSeq NP_076975, показанным на Фиг. 1. Антитела по данному изобретению специфичны в отношении внеклеточного домена PVRIG.

Как обсуждается ниже, термин «антитело» употребляется в широком смысле. Антитела, которые находят применение в данном изобретении, могут принимать ряд форматов, описанных в настоящей заявке, включая традиционные антитела, так же, как и производные, фрагменты и миметики антител, раскрытые ниже. Как правило, термин «антитело» включает любой полипептид, который содержит по меньшей мере один антигенсвязывающий домен, как более подробно описано ниже. Антитела могут быть поликлональными, моноклональными, ксеногенными, аллогенными, сингенными или их модифицированными формами, как описано в настоящей заявке, причем моноклональные

антитела находят особое применение во многих вариантах осуществления данного изобретения. В некоторых воплощениях антитела по данному изобретению специфически или по существу специфически связываются с молекулами PVRIG. Термины «моноклональные антитела» и «композиция моноклональных антител», используемые в настоящем описании, относятся к популяции молекул антител, которые содержат только один вид антигенсвязывающего сайта, способного к иммуной реакции с конкретным эпитопом антигена, тогда как термины «поликлональные антитела» и «композиция поликлональных антител» относятся к популяции молекул антител, которые содержат множество видов антигенсвязывающих сайтов, способных взаимодействовать с конкретным антигеном. Композиция моноклонального антитела обычно проявляет единственную аффинность связывания с конкретным антигеном, с которым она иммунологически реагирует.

Как правило, традиционные полноразмерные структурные единицы антитела представляют собой. Как правило, каждый тетрамер состоит из двух идентичных пар полипептидных цепей, и каждая пара имеет одну «легкую» (как правило, имеющую молекулярную массу около 25 кДа) и одну «тяжелую» цепь (как правило, имеющую молекулярную массу около 50-70 кДа). Легкие цепи человека классифицируются как легкие цепи каппа и лямбда. Данное изобретение направлено на класс IgG, имеющий несколько подклассов, включая, но не ограничиваясь указанными, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Таким образом, под термином «изотип», используемым в контексте настоящео описания, подразумевается любой из подклассов иммуноглобулинов, определяемый химическими и антигенными характеристиками их константных областей. В то время как иллюстративные антитела, обозначенные в данном описании как «CPA», основаны на тяжелых константных участках IgG1, как показано на Фиг. 4, анти-PVRIG антитела по изобретению относятся к антителам, содержащим последовательности IgG2, IgG3 и IgG4 или их комбинации. Например, как известно в данной области техники, разные изотипы IgG обладают разными эффекторными функциями, которые могут быть желательными или нежелательными. Соответственно, в CPA-антителах по данному изобретению также могут заменены константные домены IgG1 на константные домены IgG2, IgG3 или IgG4 (показаны на Фиг. 4), при этом IgG2 и IgG4 находят особое применение в ряде ситуаций, например, для простоты получения или в некоторых случаях, когда желательна сниженная эффекторная функция.

Аминоконцевая часть каждой цепи включает вариабельный участок от около 100 до 110 или более аминокислот, в первую очередь ответственный за распознавание антигена, обычно называемый в данной области техники и в настоящем описании «Fv-

доменом» или «Fv- областью». В вариабельных участках образуются по три петли для каждого из V-доменов тяжелой и легкой цепей с образованием антигенсвязывающего сайта. Каждая из петель называется областью, определяющей комплементарность (далее называемой «CDR»), в которой изменение аминокислотной последовательности является наиболее значительным. Термин «вариабельный» относится к тому факту, что определенные сегменты вариабельного участка сильно различаются по последовательности среди антител. Вариабельность в пределах вариабельного участка распределена неравномерно. Так, V-участки содержат относительно инвариантные области, называемых каркасными областями (FR) из 15 – 30 аминокислот, разделенных более короткими областями чрезмерной вариабельности, называемыми «гипервариабельными областями».

Каждый VH и VL состоит из трех гипервариабельных участков («определяющих комплементарность областей», «CDR») и четырех FR, расположенных от аминоконца до карбоксиконца в следующем порядке: FR1 – CDR1 – FR2 – CDR2 – FR3 – CDR3 – FR4.

Гипервариабельный участок обычно охватывает от около аминокислотных остатков 24 – 34 (LCDR1; «L» обозначает легкую цепь), 50 – 56 (LCDR2) и 89 – 97 (LCDR3) вариабельного участка легкой цепи и около аминокислотных остатков 31 – 35B (HCDR1; «H» обозначает тяжелую цепь), 50 – 65 (HCDR2) и 95 – 102 (HCDR3) вариабельного участка тяжелой цепи; Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991), и/или те остатки, которые образуют гипервариабельную петлю (например, остатки 26 – 32 (LCDR1), 50 – 52 (LCDR2) и 91 – 96 (LCDR3) вариабельного участка легкой цепи и 26 – 32 (HCDR1), 53 – 55 (HCDR2) и 96 – 101 (HCDR3) вариабельного участка тяжелой цепи; Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901 – 917. Специфические CDR согласно настоящему изобретению описаны ниже и показаны на Фиг. 6A-6D.

Карбоксиконцевая часть каждой цепи образует константный участок, в первую очередь ответственный за эффекторную функцию. Kabat с соавт. обобщили многочисленные первичные последовательности вариабельных участков тяжелых цепей и легких цепей. На основании степени консервативности последовательностей, они классифицировали отдельные первичные последовательности на последовательности CDR и последовательности каркасных участков, а также составили их перечень (см. SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th edition, NIH publication, No. 91 – 3242, E. A. Kabat et al.; данная публикация включена в настоящее описание в качестве ссылки во всей полноте).

Тяжелая цепь иммуноглобулинов подкласса IgG содержит несколько доменов. Под термином «домен иммуноглобулина (Ig)», который используется в настоящем описании, подразумевается участок иммуноглобулина, имеющий отчетливую третичную структуру. В данном изобретении представляют интерес домены тяжелой цепи, в том числе константные домены тяжелой цепи (CH) и шарнирные домены. Применительно к антителам IgG, каждый из изотипов IgG имеет три участка CH. Соответственно, «CH» домены применительно к IgG являются следующими: «CH1» относится к положениям 118 – 220 в соответствии с индексом EU, как по Кабату. «CH2» относится к положениям 237 – 340 в соответствии с индексом EU, как по Кабату, а «CH3» относится к положениям 341 – 447 в соответствии с индексом EU, как по Кабату.

Соответственно, изобретение относится к вариабельным доменам тяжелой цепи, вариабельным доменам легкой цепи, константным доменам тяжелой цепи, константным доменам легкой цепи и доменам Fc для применения, как описано в настоящей заявке. Под термином «вариабельный участок», используемым в контексте настоящей заявки, подразумевается участок иммуноглобулина, который содержит один или большее количество доменов Ig, по существу кодируемых любым из генов Vκ, Vλ и/или VH, которые составляют генетические локусы каппа, лямбда и тяжелой цепи иммуноглобулина, соответственно. Таким образом, вариабельный домен тяжелой цепи содержит vhFR1-vhCDR1-vhFR2-vhCDR2-vhFR3-vhCDR3-vhFR4, а вариабельный домен легкой цепи содержит vlFR1-vlCDR1-vlFR2-vlCDR2-vlFR3-vlCDR3-vlFR4. Под термином «константный участок тяжелой цепи», используемым в контексте настоящей заявки, подразумевается часть антитела CH1 – шарнирнвй участок – CH2 – CH3. В контексте настоящей заяки под термином «Fc» или «Fc-участок» или «Fc-домен» подразумевается полипептид, содержащий константный участок антитела, исключая первый константный участок домена иммуноглобулина и, в некоторых случаях, часть шарнирного участка. Таким образом, Fc относится к двум последним константным участкам иммуноглобулиновых доменов IgA, IgD и IgG, к последним трем константным участкам иммуноглобулиновых доменов IgE и IgM и гибкому шарнирному N-концу этих доменов. В IgA и IgM, Fc может включать J-цепь. В IgG домен Fc содержит иммуноглобулиновые домены Cγ2 и Cγ3 (Cγ2 и Cγ3) и нижний шарнирный участок между Cγ1 (Cγ1) и Cγ2 (Cγ2). Несмотря на то, что границы участка Fc могут варьировать, участок Fc тяжелой цепи IgG человека обычно определяется как включающий остатки C226 или P230 к его карбоксильному концу, при этом нумерация соответствует индексу EU, как по Кабату. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, что более полно описано ниже, модификации аминокислот осуществляются в участке Fc, например, для изменения

связывания с одним или более рецепторами FcγR или с рецептором FcRn.

Таким образом, под термином «Fc-вариант» или «вариант Fc» в данном описании подразумевается белок, содержащий аминокислотную модификацию в Fc-домене. Варианты Fc согласно данному изобретению обозначаются в соответствии с аминокислотными модификациями, которые в них сделаны. Таким образом, например, N434S или 434S представляет собой вариант по Fc с замещением на серин в положении 434 относительно родительского полипептида Fc, при этом нумерация соответствует индексу EC. Аналогично, M428L/N434S обозначает вариант Fc с заменами M428L и N434S относительно родительского полипептида Fc. Идентичность аминокислоты WT может быть неопределенной, и в этом случае вышеупомянутый вариант обозначается как 428L/434S. Следует отметить, что порядок, в котором представлены замены, является произвольным, то есть, например, 428L/434S представляет собой тот же самый вариант Fc, что и M428L/N434S, и т. д. Для всех положений, обсуждаемых в данном изобретении, которые связаны с антителами, если не указано иное, нумерация аминокислотных положений соответствует индексу EC.

В контексте настоящего изобретения под термином «Fab» или «участок Fab» подразумевается полипептид, который содержит домены иммуноглобулина VH, CH1, VL и CL. Fab может относиться к указанному участку, представленному отдельно, или к указанному участку в составе полноразмерного антитела, фрагмента антитела или гибридного белка, содержащего Fab. В контексте настоящего описания под термином «Fv», «фрагмент Fv» или «участок Fv» подразумевается полипептид, который содержит домены VL и VH одного антитела. Как будет понятно специалистам в данной области техники, они обычно состоят из двух цепей.

В данном описании система нумерации по Кабату обычно применяется для обозначения остатка в вариабельном домене (приблизительно, остатки 1 – 107 вариабельного участка легкой цепи и остатки 1 – 113 вариабельного участка тяжелой цепи), а система нумерации EC – для участков Fc (например, см. Kabat et al., выше (1991)). Нумерация EC, как по Кабату, обычно используется для константных доменов и/или доменов Fc.

CDR способствуют образованию антигенсвязывающего или, более конкретно, эпитопсвязывающего сайта антител. Под термином «эпитоп», используемым в контексте настоящео изобретения, подразумевается детерминанта, которая взаимодействует со специфическим антигенсвязывающим доменом, например, с вариабельным участком молекулы антитела, известной как паратоп. Эпитопы представляют собой группы молекул, таких как аминокислоты или боковые цепи сахаров, и обычно имеют

специфические структурные характеристики, а также специфические характеристики заряда. Один антиген может иметь более одного эпитопа.

Эпитоп может содержать аминокислотные остатки, непосредственно участвующие в связывании (также называемые иммунодоминантным компонентом эпитопа), и другие аминокислотные остатки, которые не участвуют непосредственно в связывании, такие как аминокислотные остатки, которые эффективно блокируются специфическим антигенсвязывающим пептидом; другими словами, аминокислотный остаток находится в зоне активности специфического антигенсвязывающего пептида.

Эпитопы могут иметь конформационную или линейную природу. Конформационный эпитоп образуется при объединении пространственно разделенных аминокислот из разных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп представляет собой эпитоп, образуемый соседними аминокислотными остатками в полипептидной цепи. Конформационные и неконформационные эпитопы могут различаться тем, что в присутствии денатурирующих растворителей теряется связывание с первыми, но не со вторыми эпитопами.

Как правило, эпитоп включает в себя по меньшей мере 3, а более характерно – по меньшей мере 5 или 8 – 10 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Антитела, которые распознают один и тот же эпитоп, могут быть верифицированы с помощью простого иммуноанализа, демонстрирующего способность одного антитела блокировать связывание другого антитела с целевым антигеном, например, посредством «бининга». Конкретные пары оснований описаны ниже.

В определение «антитело» включена «антигенсвязывающая часть» антитела (это понятие также используется взаимозаменяемо с терминами «антигенсвязывающий фрагмент», «фрагмент антитела» и «производное антитела»). То есть для целей изобретения антитело по данному изобретению имеет минимальное функциональное требование, чтобы оно связывалось с антигеном PVRIG. Как должно быть понятно специалистам в данной области техники, существует большое количество фрагментов и производных антитела, которые сохраняют способность связывать антиген и при этом имеют альтернативные структуры, включая, но не ограничиваясь указанными, (i) Fab-фрагменты, состоящие из доменов VL, VH, CL и CH1, (ii) фрагменты Fd, состоящие из доменов VH и CH1, (iii) фрагменты F(ab')2, бивалентные фрагменты, состоящие из двух связанных Fab-фрагментов, (vii) одноцепочечные молекулы Fv (scFv), при этом домен VH и домен VL связаны пептидным линкером, который позволяет двум доменам ассоциироваться с образованием сайта связывания антигена (Bird et al., 1988, Science 242:423-426, Huston et al., 1988), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883, полностью

включено в настоящее опис ание качестве ссылки), (iv) «диатела» или «триатела», мультивалентные или мультиспецифичные фрагменты, сконструированные путем слияния генов (Tomlinson et. al., 2000, Methods Enzymol. 326:461-479; WO94/13804; Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:6444-6448, все процитированные источники включены в настоящее описание в качестве ссылки), (v) «доменные антитела» или «dAb» (иногда называемые «одиночными вариабельными доменами иммуноглобулина», включая вариабельные домены отдельных антител других видов, таких как грызуны (например, как описано в WO 00/29004), акулы-няньки и верблюды V-HH dAb, (vi) SMIP (малые иммунофармацевтические молекулы), верблюжьи антитела, нанотела и IgNAR.

Кроме того, антитело или его антигенсвязывающая часть (антигенсвязывающий фрагмент, фрагмент антитела, часть антитела) могут быть частью более крупных молекул иммуноадгезии (иногда также называемых «слитыми белками»), образованных ковалентной или нековалентной ассоциацией антитела или части антитела с одним или более другими белками или пептидами. Примеры создания иммуноадгезионных молекул включают использование корового участка стрептавидина для получения тетрамерной молекулы scFv и использование остатка цистеина, маркерного пептида и С-концевой полигистидиновой метки для получения двухвалентных и биотинилированных молекул scFv. Части антител, такие как фрагменты Fab и $F(ab')_2$, могут быть получены из полноразмерных антител с использованием обычных способов, таких как расщепление полноразмерных антител папаином или пепсином, соответственно. Более того, антитела, части антител и молекулы иммуноадгезии могут быть получены с использованием стандартных методов рекомбинантной ДНК, как описано в настоящей заявке.

Как правило, анти-PVRIG антитела по настоящему изобретению являются рекомбинантными. Термин «рекомбинантный», используемый в настоящем описании, в широком смысле относящийся к продукту, *например*, к клетке или нуклеиновой кислоте, белку или вектору, указывает на то, что клетка, нуклеиновая кислота, белок или вектор были модифицированы путем введения гетерологичной нуклеиновой кислоты или белка, или на изменение нативной нуклеиновой кислоты или белка, или на то, что клетка получена из модифицированной таким образом клетки. Так, например, рекомбинантные клетки экспрессируют гены, которые не обнаруживаются в нативной (нерекомбинантной) клетке, или экспрессируют нативные гены, которые в другом случае экспрессируются аномально, недостаточно экспрессируются или вообще не экспрессируются.

Термин «рекомбинантное антитело» в контексте настоящего описания включает все антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные рекомбинантными методами, такие как (a) антитела, выделенные из организма животного

(*например,* мыши), которое является трансгенным или трансхромосомным в отношении генов человеческих иммуноглобулинов, или полученной из такого животного гибридомы (дополнительно описанной ниже), (b) антитела, выделенные из клетки-хозяина, трансформированной для экспрессии человеческого антитела, например, из трансфектомы, (c) антитела, выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки человеческих антител, и (d) антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими методами, которые включают сплайсинг последовательностей генов человеческих иммуноглобулинов с получением других последовательностей ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела имеют вариабельные участки, в которых каркасные участки и участки CDR происходят из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Однако в некоторых вариантах осуществления данного изобретения, такие рекомбинантные человеческие антитела могут быть подвергнуты мутагенезу *in vitro* (или, когда используются животные, трансгенные по последовательностям человеческого Ig, соматическому мутагенезу *in vivo*) и, таким образом, аминокислотные последовательности областей V_H и V_L рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, хотя и происходят из последовательностей V_H и V_L зародышевой линии человека и связаны с ними, могут не существовать в природе в репертуаре антител зародышевой линии человека *in vivo*.

A. Необязательное конструирование антител

Анти-PVRIG антитела (*например*, анти-PVRIG антитела, в том числе с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3) по данному изобретению можно модифицировать или сконструировать для изменения аминокислотных последовательностей путем аминокислотных замен.

Под термином «аминокислотная замена» или «замена» в настоящем описании подразумевается замена аминокислоты в конкретном положении родительской полипептидной последовательности на другую аминокислоту. В частности, в некоторых вариантах осуществления данного изобретения, замена представляет собой аминокислоту, которая не встречается в природе в конкретном положении, либо не встречается в природе в данном организме или в любом другом организме. Например, замена E272Y относится к вариантному полипептиду, в данном случае к варианту по Fc, в котором глутаминовая кислота в положении 272 заменена тирозином. Для ясности, белок, полученный путем изменения нуклеотидной кодирующей последовательности, но без изменения исходной аминокислоты (например, замена кодона CGG (кодирующего аргинин) на CGA (также кодирующий аргинин) с целью повышения уровней экспрессии белка в организме

хозяина), не является «аминокислотной заменой», т.е., несмотря на создание нового гена, кодирующего тот же белок, при условии, что данный белок содержит ту же аминокислоту в конкретном положении, что и изначально, это не является аминокислотной заменой.

Как обсуждается в настоящем описании, аминокислотные замены могут быть осуществлены с целью изменения аффинности CDR к PVRIG белку (включая как увеличение, так и уменьшение связывания, как более подробно описано ниже), а также с целью изменения дополнительных функциональных свойств антител. Например, антитела можно сконструировать так, чтобы они содержали модификации в Fc-участке, обычно для изменения одного или более функциональных свойств антитела, таких как период полужизни в сыворотке, фиксация комплемента, связывание с рецептором Fc и/или антиген-зависимая клеточная цитотоксичность. Дополнительно, антитело согласно по меньшей мере некоторым вариантам осуществления данного изобретения можно химически модифицировать (например, одну или более химических групп можно присоединить к антителу) или можно модифицировать антитело с целью изменения его гликозилирования, опять-таки, чтобы изменить одно или более функциональных свойств антитела. Такие варианты осуществления данного изобретения описаны ниже. Нумерация остатков в Fc-участка соответствует индексу EU Кабата.

В одном варианте осуществления данного изобретения, шарнирный участок C_{H1} модифицирован таким образом, что количество остатков цистеина в шарнирном участке изменяется, например, увеличивается или уменьшается. Этот подход описан дополнительно в патенте США № 5677425, Bodmer et al. Количество остатков цистеина в шарнирном участке CH1 изменяют, например, для облегчения сборки легкой и тяжелой цепей или для увеличения, или уменьшения стабильности антитела.

В другом варианте осуществления данного изобретения, шарнирный участок Fc антитела мутирован для уменьшения биологического периода полужизни антитела. Более конкретно, одна или более аминокислотных мутаций вводятся в участок интерфейса доменов CH2-CH3 фрагмента Fc-шарнирного участка, так что антитело нарушает связывание белка A *Staphylococcyl* (SpA) по сравнению со связыванием SpA нативного Fc-шарнирного домена. Этот подход более подробно описан Ward et al. в патенте США № 6165745.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения аминокислотные замены можно осуществить в Fc-участке, в основном, для изменения связывания с рецепторами FcγR. Под термином «Fc гамма рецептор», «FcγR» или «Fc гамма R», в контексте настоящего описания, подразумевается любой член семейства белков, который связывает участок Fc антитела IgG и кодируется геном FcγR. У людей это семейство

включает, но не ограничивается указанными: FcγRI (CD64), включая изоформы FcγRIa, FcγRIb и FcγRIc; FcγRII (CD32), включая изоформы FcγRIIa (включая аллотипы H131 и R131), FcγRIIb (включая FcγRIIb-1 и FcγRIIb-2) и FcγRIIc; и FcγRIII (CD16), включая изоформы FcγRIIIa (включая аллотипы V158 и F158) и FcγRIIIb (включая аллотипы FcγRIIIb-NA1 и FcγRIIIb-NA2) (Jefferis et al., 2002, Immunol Lett 82:57-65, включено в настоящее описание в качестве ссылки во всей полноте), а также любые неизвестные изоформы или аллотипы FcγRs или FcγR человека. FcγR может происходить из любого организма, включая, но не ограничиваясь указанными: организма людей, мышей, крыс, кроликов и обезьян. FcγR мыши включают, но не ограничиваются указанными: FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII-1 (CD16) и FcγRIII-2 (CD16-2), а также любые неизвестные изоформы или аллотипы FcγR или FcγR мыши.

Существует ряд пригодных замен в Fc, которые можно осуществить для изменения связывания с одним или более рецепторами FcγR. Могут быть полезными замены, которые приводят к увеличению связывания, а также к уменьшению связывания. Например, известно, что увеличенное связывание с FcγRIIIa обычно приводит к увеличению АЗКЦ (антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности; клеточно-опосредованной реакции, при которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют FcγR, распознают связанное антитело на клетке-мишени и впоследствии вызывают лизис клетки-мишени. Аналогичным образом, в некоторых случаях также может быть полезным уменьшение связывания с FcγRIIb (ингибирующий рецептор). Аминокислотные замены, которые находят применение в данном изобретении, включают в себя замены, перечисленные в заявке США № 11/124620 (в частности, Фиг. 41), и в патенте США № 6737056; оба документа включены в настоящее описание в качестве ссылки во всей полноте и специально применительно к описанным в них вариантам. Конкретные варианты, которые находят применение, включают следующие, но не ограничиваются указанными: 236A, 239D, 239E, 332E, 332D, 239D/332E, 267D, 267E, 328F, 267E/328F, 236A/332E, 239D/332E/330Y, 239D, 332E/330L, 299T и 297N.

Кроме того, антитела по данному изобретению модифицируют для увеличения их биологического периода полужизни. Существуют разные подходы. Например, можно ввести одну или большее количество из следующих мутаций: T252L, T254S, T256F, как описано в патенте США № 6277375, Ward. В альтернативном варианте, для увеличения биологического периода полужизни, антитело можно изменить в области C_{H1} или C_L таким образом, что оно будет содержать эпитоп связывания рецептора реутилизации, образованного из двух петель CH2-домена Fc-области IgG, как описано Presta et al. в патентах США №№ 5869046 и 6121022. Дополнительные мутации для увеличения

периода полужизни в сыворотке описаны в патентах США №№ 8883973, 6737056 и 7371826 и включают 428L, 434A, 434S и 428L/434S.

В других вариантах осуществления данного изобретения Fc-участок изменяют путем замены по меньшей мере одного аминокислотного остатка другим аминокислотным остатком для изменения эффекторных функций антитела. Например, одну или более аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 и 322, можно заменить другим аминокислотным остатком, так что антитело будет иметь измененную аффинность к эффекторному лиганду, но сохранит антигенсвязывающую способность родительского антитела. Эффекторный лиганд, к которому изменяется аффинность, может быть, например, рецептором Fc или компонентом C1 комплемента. Этот подход более подробно описан в патентах США №№ 5624821 и 5648260, Winter et al.

В другом примере, одну или более аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков 329, 331 и 322, можно заменить другим аминокислотным остатком, так что антитело будет характеризоваться измененным связыванием C1q и/или уменьшенной или аннулированной комплементзависимой цитотоксичностью (КЗЦ). Этот подход более подробно описан Idusogie et al. в патенте США № 6194551.

В другом примере, один или большее количество аминокислотных остатков в аминокислотных положениях 231 и 239 изменяют, чтобы тем самым изменить способность антитела фиксировать комплемент. Этот подход дополнительно описан Bodmer et al. в опубликованной заявке PCT WO 94/29351.

В еще одном примере Fc-участок модифицируют для увеличения способности антитела опосредовать антитело-зависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) и/или для увеличения аффинности антитела к рецептору Fcγ путем модификации одной или более аминокислот в следующих положениях: 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 или 439. Этот подход дополнительно описан Presta в опубликованной заявке PCT WO 00/42072. Кроме того, сайты связывания на IgG1 человека для FcγRI, FcγRII, FcγRIII и FcRn были картированы, и были описаны варианты с улучшенным связыванием (см. Shields, R. L. et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276:6591-6604). Продемонстрировано, что специфические мутации в положениях 256, 290, 298, 333, 334 и 339 улучшают связывание с FcγRIII. Кроме того, продемонстрировано, что следующие комбинации мутантов улучшают связывание FcγRIII: T256A/S298A, S298A/E333A, S298A/K224A и S298A/E333A/K334A. Кроме того, такие мутации, как M252Y/S254T/T256E или

M428L/N434S, улучшают связывание с FcRn и увеличивают период полужизни циркулирующих антител (см. Chan CA and Carter PJ (2010) *Nature Rev Immunol* 10:301-316).

В еще одном варианте осуществления данного изобретения антитело может быть модифицировано для аннулирования обмена Fab-плечами *in vivo*. В частности, этот процесс включает в себя обмен между различными полумолекулами IgG4 (одна тяжелая цепь плюс одна легкая цепь), что приводит к эффективному образованию биспецифических антител, которые являются функционально моновалентными. Мутации в шарнирном участке и константных доменах тяжелой цепи могут отменить этот обмен (см. Aalberse, RC, Schuurman J., 2002, *Immunology* 105: 9-19).

В еще одном варианте осуществления данного изобретения модифицируют гликозилирование антитела. Например, может быть получено агликозилированное антитело (то есть антитело без гликозилирования). Гликозилирование может быть изменено, например, для увеличения аффинности антитела к антигену или снижения эффекторной функции, такой как АЗКЦ. Такие углеводные модификации могут быть осуществлены, например, путем изменения одного или более сайтов гликозилирования в последовательности антитела, например, N297. В частности, можно осуществить одну или более аминокислотных замен, которые приводят к удалению одного или более сайтов гликозилирования из каркасного участка вариабельного участка, чтобы таким образом устранить гликозилирование в этом сайте.

Дополнительно или в качестве альтернативы, может быть создано антитело с измененным типом гликозилирования, такое как гипофукозилированное антитело с уменьшенным количеством остатков фукозила, или антитело с увеличенным количеством бисекционных структур GlcNac. Было продемонстрировано, что такие измененные характеристики гликозилирования повышают АЗКЦ-способность антител. Такие углеводные модификации могут быть осуществлены, например, путем экспрессии антитела в клетке-хозяине с измененным аппаратом гликозилирования. Клетки с измененным аппаратом гликозилирования были описаны в данной области техники и могут применяться в качестве клеток-хозяев, в которых экспрессируются рекомбинантные антитела согласно по меньшей мере некоторым вариантам осуществления данного изобретения, в результате чего получают антитело с измененным гликозилированием. Например, в клеточных линиях Ms704, Ms705 и Ms709 отсутствует ген фукозилтрансферазы, FUT8 (α (1,6) фукозилтрансфераза), так что в антителах, экспрессируемых в клеточных линиях Ms704, Ms705 и Ms709, отсутствует фукоза в составе углеводов. Клеточные линии Fs8 Ms704, Ms705 и Ms709 создают путем

целенаправленного разрушения гена FUT8 в клетках CHO/DG44 с помощью двух замещающих векторов (см. опубликованную заявку на патент США № 20040110704, Yamane et al. и Yamane-Ohnuki et al. (2004) *Biotechnol Bioeng* 87: 614-22). В качестве другого примера, в публикации Hanai et al. EP 1176195 описана клеточная линия с функционально разрушенным геном FUT8, который кодирует фукозилтрансферазу, в результате чего антитела, экспрессируемые в такой клеточной линии, демонстрируют гипофукозилирование путем уменьшения активности или элиминации фермента, функционального в отношении с α 1,6-связей. Hanai et al. также описывают клеточные линии, которые обладают низкой ферментативной активностью при добавлении фукозы к N-ацетилглюкозамину, который связывается с Fc-участком антитела, или не обладают ферментативной активностью, например, клеточные линия клеток миеломы крысы YB2/0 (ATCC CRL 1662). В опубликованной заявке PCT WO 03/035835, Presta, описан вариант клеточной линии CHO, клетки Lec 13, с уменьшенной способностью присоединять фукозу к Asn (297)-связанным углеводам, что также приводит к гипофукозилированию антител, экспрессируемых в этой клетке-хозяине (см. также, Shields, R. L. et al. (2002) *J. Biol. Chem.* 277:26733-26740). В опубликованной заявке PCT WO 99/54342, Umana et al., описаны клеточные линии, сконструированные для экспрессии гликопротеин-модифицирующих гликозилтрансфераз (например, β (1,4)-N-ацетилглюкозаминилтрансфераза III (GnTIII)) таким образом, что антитела, экспрессируемые в сконструированных клеточных линиях, демонстрируют повышение количества бисекционных структур GlcNac, что приводит к увеличению АЗКЦ антител (см. также Umana et al. (1999) *Nat. Biotech.* 17:176-180). В альтернативном варианте, остатки фукозы антитела можно отщепить с помощью фермента фукозидазы. Например, фукозидаза α-L-фукозидаза удаляет фукозильные остатки из антител (Tarentino, AL et al. (1975) *Biochem.* 14: 5516-23).

Другой модификацией антител, которая предлагается согласно настоящему изобретению, является ПЭГилирование или добавление других растворимых в воде молекул, обычно полимеров, например, для увеличения периода полужизни. Антитело может быть ПЭГилировано, например, для увеличения биологического (в частности, сывороточного) периода полужизни определенного антитела. Для ПЭГилирования антитела, антитело или его фрагмент обычно подвергают взаимодействию с полиэтиленгликолем (ПЭГ), таким как реакционноспособный сложный эфир или альдегидное производное ПЭГ, в условиях, когда одна или более групп ПЭГ присоединяются к антителу или фрагменту антитела. Предпочтительно ПЭГилирование осуществляют посредством реакции ацилирования или реакции алкилирования с помощью реакционноспособной молекулы ПЭГ (или аналогичного реакционноспособного

водорастворимого полимера). В данном контексте под термином «полиэтиленгликоль» подразумевается любая форма ПЭГ, которая применялась для образования производных других белков, таких как моно (C_1-C_{10})алкокси- или арилокси-полиэтиленгликоль или полиэтиленгликоль-малеимид. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения антитело, подлежащее ПЭГилированию, представляет собой агликозилированное антитело. Способы ПЭГилирования белков известны в данной области техники и могут быть применены к антителам в соответствии по меньшей мере с некоторыми вариантами осуществления данного изобретения. См., например, публикацию EP 0 154 316, Nishimura et al., и публикацию EP 0401384, Ishikawa et al.

В дополнение к заменам, осуществленным для изменения аффинности связывания с FcγRs и/или FcRn, и/или для увеличения периода полужизни в сыворотке in vivo, можно осуществить дополнительные модификации антител, как более подробно описано ниже.

В некоторых случаях достигают созревания аффинности. Аминокислотные модификации в CDR иногда называют «созреванием аффинности». Антитело с «созревшей аффинностью» представляет собой антитело, имеющее одно или более изменений в одной или более CDR, что приводит к улучшению аффинности антитела к антигену по сравнению с родительским антителом, которое не обладает этими изменениями. В некоторых случаях, хотя и редко, может быть желательно уменьшить аффинность антитела к «своему» антигену, но обычно это нежелательно.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения одну или более модификаций аминокислот вводят в одну или более областей CDR PVRIG антител по данному изобретению. Как правило, только 1, 2 или 3 аминокислоты замещают в любой отдельной области CDR, и, как правило, не более чем из 1, 2, 3. 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 изменений вносятся в набор CDR. Однако следует понимать, что любая комбинация без замен, с 1, 2 или 3 заменами в любой CDR может независимо и необязательно сочетаться с любой другой заменой.

Созревание аффинности можно осуществлять для увеличения аффинности связывания антитела с PVRIG антигеном по меньшей мере на от около 10% до 50-100-150% или более, или от 1 до 5 раз по сравнению с «родительским» антителом. Предпочтительные антитела с созревшей аффинностью будут иметь наномолярную или даже пикомолярную аффинность к PVRIG антигену. Антитела с созревшей аффинностью получают с помощью известных способов. См., например, публикацию Marks et al., 1992, Biotechnology 10: 779-783, в которой описано созревание аффинности с помощью перестановки доменов вариабельной тяжелой цепи (VH) и вариабельной легкой цепи (VL). Случайный мутагенез остатков CDR и/или каркасного участка описан, например,

в публикациях Barbas, et al. 1994, Proc. Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813; Shier et al., 1995, Gene 169:147-155; Yelton et al., 1995, J. Immunol. 155: 1994-2004; Jackson et al., 1995, J. Immunol. 154 (7): 3310-9; и Hawkins et al., 1992, J. Mol. Biol. 226: 889-896.

В другом варианте, аминокислотные модификации могут быть сделаны в одной или более областях CDR антител согласно настоящему изобретению, которые являются «молчащими», т.е., например, существенно не изменяют аффинность антитела к антигену. Это может быть сделано по ряду причин, включая оптимизацию экспрессии (как это может быть осуществлено для нуклеиновых кислот, кодирующих антитела согласно данному изобретению).

Таким образом, в определение CDR и антител по данному изобретению включены варианты CDR и антител; то есть антитела по данному изобретению могут включать модификации аминокислот в одной или более CDR перечисленных антител по данному изобретению. Кроме того, как указано ниже, аминокислотные модификации также могут быть независимо и необязательно сделаны в любом участке за пределами CDR, включая каркасные и константные участки.

IV. АНТИ- PVRIG АНТИТЕЛА

Данное изобретение относится к анти-PVRIG антителам. (Для удобства термины «анти-PVRIG антитела» и «антитела PVRIG» используются взаимозаменяемо). Анти-PVRIG антитела по данному изобретению специфически связываются с PVRIG человека и, предпочтительно, с ECD PVRIG1 человека, как показано на Фиг. 3, включая, *например*, анти-PVRIG антитела, в том числе с CDR, идентичными областям CDR, показанным на Фиг. 3.

Может проявляться специфическое связывание с PVRIG или эпитопом PVRIG, например, антителом, имеющим KD по меньшей мере около 10^{-4} M, по меньшей мере около 10^{-5} M, по меньшей мере около 10^{-6} M, по меньшей мере около 10^{-7} M, по меньшей мере около 10^{-8} M, по меньшей мере около 10^{-9} M, по меньшей мере около 10^{-10} M, по меньшей мере около 10^{-11} M, по меньшей мере около 10^{-12} M, или больше, где KD относится к скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антигена. Как правило, антитело, которое специфически связывает антиген, будет иметь KD, которая в 20, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 или больше раз выше для контрольной молекулы к антигену PVRIG или эпитопу.

Однако, как показано в примерах для оптимального связывания с PVRIG, экспрессируемым на поверхности NK- и T-клеток, антитела предпочтительно имеют KD менее чем 50 нМ и наиболее предпочтительно менее чем 1 нМ, с менее чем 0,1 нМ и менее чем 1 пМ и 0,1 пМ, как обнаруживается в способах согласно настоящему

изобретению.

Также, специфическое связывание для конкретного антигена или эпитопа может проявляться, например, антителом, имеющим показатель KA или Ka для антигена или эпитопа PVRIG, составляющий по меньшей мере в 20-, 50-, 100-, 500-, 1000-, 5000-, 10000- или более раз больше чем для эпитопа по сравнению с контролем, где KA или Ka обозначает скорость ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген.

В некоторых вариантах осуществления, анти-PVRIG антитела согласно данному изобретению связываются с PVRIG человека с K_D 100 нМ или менее, 50 нМ или менее, 10 нМ или менее, или 1 нМ или менее (то есть, более высокой аффинностью связывания), или 1 пМ или менее, при этом K_D определяют с помощью известных способов, например, поверхностного плазмонного резонанса (SPR, например, анализы Biacore), ИФА, KINEXA, и наиболее типично SPR при 25° или 37° С.

Данное изобретение относится к антигенсвязывающим доменам, включая полноразмерные антитела, которые содержат ряд специфических, перечисленных наборов из 6 CDR, как представлено на Фиг. 3.

В данном изобретении дополнительно предлагаются вариабельные домены тяжелой и легкой цепей, а также полноразмерные тяжелые и легкие цепи.

Как обсуждается в настоящем описании, изобретение дополнительно предлагает варианты вышеуказанных компонентов, включая варианты CDR, как обозначено выше. Кроме того, вариабельные домены тяжелых цепей могут быть на по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичными последовательностям «VH» согласно настоящей заявке и/или содержать от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 аминокислотных замен или более, в случае вариантов Fc. Представлены вариабельные легкие цепи, которые могут быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичными последовательностям «VL» согласно настоящей заявке и/или содержать от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 аминокислотных замен или более, в случае вариантов Fc. Точно так же предлагаются тяжелые и легкие цепи, которые могут быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичными последовательностям «HC» и «LC» согласно настоящей заявке и/или содержать от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 аминокислотных замен или более, в случае вариантов Fc.

Соответственно, в данном изобретении предлагаются антитела, обычно полноразмерные антитела или домены scFv, которые содержат следующие CHA наборы CDR, последовательности которых приведены на Фиг. 3:

CHA.7.518.1.H4(S241P)vhCDR1, CHA.7.518.1.H4(S241P)vhCDR2, CHA.7.518.1.H4(S241P)vhCDR3, CHA.7.518.1.H4(S241P)vlCDR1, CHA.7.518.1.H4(S241P)vlCDR2, и CHA.7.518.1.H4(S241P)vlCDR3.

Кроме того, каркасные области вариабельных тяжелых и вариабельных легких цепей могут быть гуманизированы, как известно в данной области техники (при необходимости в CDR генерируются случайные варианты), и, таким образом, могут быть созданы гуманизированные варианты цепей VH и VL, показанных на Фиг. 3. Дополнительно, гуманизированные вариабельные домены тяжелой и легкой цепей затем могут быть слиты с константными участками антитела человека, такими как константные участки IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

Кроме того, в объем изобретения также включены последовательности, которые могут иметь идентичные CDR, но могут иметь различия в вариабельном домене (или во всей тяжелой или легкой цепи). Например, антитела к PVRIG включают в себе антитела с CDR, которые идентичны тем, которые показаны на Фиг. 3 или Фиг. 5A-5D, но идентичность которых по длине вариабельного участка может быть ниже, например, с процентом идентичности 95% или 98%. В частности, антитела к PVRIG включают в себя антитела с CDR, которые идентичны тем, которые показаны на Фиг. 3, но чья идентичность по длине вариабельного участка может быть ниже, чем например, 95% или 98% идентичности, а в некоторых вариантах осуществления данного изобретения может составлять по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98%.

Процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями можно определить с помощью алгоритма E. Meyers и W. Miller (*Comput. Appl. Biosci, 4:* 11-17 (1988)), который включен в программу ALIGN (версия 2.0), с применением таблицы веса остатков PAM120, штрафа 12 за гэп в последовательности и штрафа 4 за гэп. Кроме того, процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями можно определить с помощью алгоритма Needleman и Wunsch (*J. Mol. Biol.* 48: 444-453 (1970)), который включен в программу GAP в пакете программного обеспечения GCG (имеется в продаже), с применением либо матрицы Blossum 62, либо матрицы PAM250, вес гэпа 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4, и вес удлинения 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

В дополнительном или альтернативном варианте, белковые последовательности согласно данному изобретению можно дополнительно использовать в качестве «последовательности запроса» для выполнения поиска в общедоступных базах данных, например, для идентификации родственных последовательностей. Такой поиск может быть выполнен с помощью программы XBLAST (версия 2.0) от Altschul, et al. (1990) *J Mol. Biol.* 215:403-10. Поиски белков с помощью BLAST могут быть выполнены при

использовании программы XBLAST, бал = 50, длина слова = 3, для получения аминокислотных последовательностей, гомологичных молекулам антител, согласно, по меньшей мере, некоторым вариантам осуществления данного изобретения. Чтобы получить выравнивания с пробелами для целей сравнения, можно использовать Gapped BLAST, как описано в Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402. При использовании программ BLAST и Gapped BLAST можно использовать параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST).

В целом, процент идентичности для сравнения между антителами к PVRIG составляет по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, при этом предпочтительным является процент идентичности по меньшей мере около 95%, 96%, 97%, 98% или 99%. Процент идентичности может быть по всей длине аминокислотной последовательности, например, по всей длине тяжелой или легкой цепи, или вдоль части цепей. Например, в определение анти-PVRIG антител согласно данному изобретению включены антитела, которые имеют идентичность вдоль всего вариабельного участка (например, когда идентичность составляет 95% или 98% идентичности вдоль вариабельных участков, и в некоторых вариантах осуществления данного изобретения по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98%), или вдоль всего константного участка, или вдоль только домена Fc.

V. СОСТАВЫ АНТИ-PVRIG АНТИТЕЛ

Композиции анти-PVRIG антител и/или их антигенсвязывающих частей (например, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3) могут быть включены в состав фармацевтических композиций, содержащих носитель, подходящий для желаемого способа доставки. Пригодные носители включают в себя любое вещество, которое в комбинации с терапевтической композицией сохраняет противоопухолевую функцию терапевтической композиции и, как правило, не вызывает реакции иммунной системы пациента. Примеры включают в себя, но не ограничиваются любым из ряда стандартных фармацевтических носителей, таких как стерильные фосфатно-солевые буферные растворы, бактериостатическая вода и т. п. (см., в целом, Remington's Pharmaceutical Sciences 16th Edition, A. Osal., Ed., 1980). Приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях, и включают в себя буферы, такие как фосфатный, цитратный, ацетатный и на основе других органических кислот; антиоксиданты, в том числе аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как октадецилдиметилбензила аммонийхлорид; гексаметония хлорид; бензалкония хлорид, бензетония хлорид; феноловый, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие

как метил- или пропилпарабен; катехол; резорцинол; циклогексанол; 3-пентанол; и м-крезол); низкомолекулярные (менее чем приблизительно 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, в том числе глюкоза, манноза или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; подсластители и другие ароматизаторы; наполнители, такие как микрокристаллическая целлюлоза, лактоза, кукурузный и другие крахмалы; связующие вещества; добавки; красящие вещества; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn – белок); и (или) неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (ПЭГ).

В предпочтительном варианте осуществления данного изобретения фармацевтическая композиция, содержащая анти-PVRIG антитела (в том числе с CDR, которые идентичны показанным на Фиг. 3) по данному изобретению может быть в водорастворимой форме, например, в виде фармацевтически приемлемых солей, которая должна включать как соль присоединения кислоты, так и соль присоединения основания. «Фармацевтически приемлемые соли присоединения кислоты» относятся к тем солям, которые сохраняют биологическую эффективность свободных оснований и не являются нежелательными с биологической или иной точки зрения, и образованы неорганическими кислотами, такими как соляная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота и т.п., и органические кислоты, такие как уксусная кислота, пропионовая кислота, гликолевая кислота, пировиноградная кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, фумаровая кислота, винная кислота, лимонная кислота, бензойная кислота, коричная кислота, миндальная кислота, метансульфокислота, этансульфокислота, п-толуолсульфокислота, салициловая кислота и т.п. «Фармацевтически приемлемые соли присоединения основания» включают соли, полученные из неорганических оснований, например, такие соли, как соли натрия, калия, лития, аммония, кальция, магния, железа, цинка, меди, марганца, алюминия и т.п. Особенно предпочтительными являются соли аммония, калия, натрия, кальция и магния. Соли, полученные из фармацевтически приемлемых органических нетоксичных оснований, включают соли первичных, вторичных и третичных аминов, замещенные амины, включая встречающиеся в природе замещенные амины, циклические амины и основные ионообменные смолы, такие как изопропиламин, триметиламин, диэтиламин, триэтиламин, трипропиламин и этаноламин. Составы, применяемые для введения in vivo,

предпочтительно являются стерильными. Это легко достигается с помощью фильтрации с использованием стерильных фильтрующих мембран или других способов.

Используемый в настоящем описании термин «активность» относится к функциональной активности или активности анти-PVRIG антител и/или их антигенсвязывающих частей. Функциональная активность включает, но не ограничивается указанными, биологическую активность или аффинность связывания.

Используемый в настоящем описании термин «стабильность» применяется в структурном контексте, *например*, применительно к структурной целостности анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, или в функциональном контексте, *например*, в отношении способности анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части сохранять свою функцию и/или активность с течением времени (например, включая стабильность анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части или стабильность состава анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, при этом анти-PVRIG антитело содержит CDR, идентичные CDR, показанным на Фиг. 3). Понятно, что обсуждаемое анти-PVRIG антитело и/или его антигенсвязывающая часть могут содержаться в составе в соответствии с описанными в настоящей заявке способами и композициями, и стабильность антитела относится к его стабильности в этом составе. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильность композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части определяют путем измерения связывающей активности композиции, включая, например, использование анализов, раскрытых в заявке и на фигурах, представленных в настоящем описании, а также в качестве других применимых анализов, известных в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильность композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, содержащей сахар, сахарный спирт и/или неионогенное поверхностно-активное вещество, как описано в настоящей заявке, сравнивается со стабильностью композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, не содержащей по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества и/или другой комбинации компонентов. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения состав не содержит сахара и/или сахарного спирта.

Используемый в настоящем описании термин «стабильная при хранении» водная композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части относится к раствору анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, который был приготовлен, чтобы повысить стабильность белка в растворе, например, по меньшей мере на 10%, в течение заданного времени хранения. В контексте данного изобретения анти-

PVRIG антителу и/или его антигенсвязывающей части можно придать «стабильность при хранении» путем добавления по меньшей мере одной аминокислоты, соли или неионогенного поверхностно-активного вещества в качестве стабилизирующего агента. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильность анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части в любом данном составе можно измерить, например, путем мониторинга образования агрегатов, потери объемной связывающей активности или образования продуктов деградации с течением времени. Абсолютная стабильность состава и стабилизирующие эффекты сахара, сахарного спирта или неионогенного поверхностно-активного вещества будут варьировать в зависимости от конкретной стабилизируемой композиции. В одном варианте осуществления данного изобретения, стабильность композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части определяют путем измерения связывающей активности композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, например, с помощью ИФА или другого анализа активности связывания. В одном варианте осуществления данного изобретения, стабильность композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, содержащей сахар, сахарный спирт и/или неионогенное поверхностно-активное вещество, как описано в настоящей заявке, сравнивается со стабильностью композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, не содержащей по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества и/или другой комбинации компонентов. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения состав не содержит сахара и/или сахарного спирта.

Используемый в настоящем описании термин «срок хранения» относится к периоду времени, в течение которого состав сохраняет заданный уровень стабильности при заданной температуре. В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения, заданная температура относится к температуре замораживания (*например*, от -80°C, -25°C, 0°C), охлаждения (*например*, от 0° до 10°C) или комнатной температуре (*например*, от 18°C до 32°C) хранения.

Используемый в настоящем описании термин «время стабильности» относится к продолжительности периода времени, в течение которого состав считается стабильным. Например, время стабильности состава может относиться к продолжительности периода времени, в течение которого уровень агрегации и/или деградации белка в составе остается ниже определенного порога (*например*, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, и т.д.), и/или продолжительности периода времени, в течение которого состав сохраняет биологическую активность выше

определенного порога (*например*, 100%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50% и т. д.) от количества активности (включая, например, связывающую активность), присутствующей в составе в начале периода хранения.

В контексте данного изобретения стабильная при хранении водная композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, содержащая сахар, сахарный спирт и/или неионогенное поверхностно-активное вещество, будет иметь более длительное время стабильности, чем композиция того же анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, не содержащая по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения стабильная при хранении водная композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части будет иметь время стабильности, которое, например, по меньшей мере на 10% больше, чем время стабильности композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, не содержащей по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества, или по меньшей мере на 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 160%, 170%, 180%, 190% больше, или по меньшей мере в 2 раза больше, или по меньшей мере в 2,5 раза, 3,0 раза, 3,5 раза, 4,0 раза, 4,5 раза, 5,0 раза, 5,5 раза, 6,0 раз, 6,5 раза, 7,0 раза, 7,5 раза, 8,0 раза, 8,5 раза, 9,0 раза, 9,5 раза, 10 раз или более раз больше времени стабильности композиции анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, не содержащей по меньшей мере, аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества.

Используемый в настоящем описании термин «BDS» относится к «нерасфасованной лекарственной субстанции» («общей лекарственной субстанции»).

A. <u>Стабилизированные жидкие составы</u>

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабилизированным водным составам анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части (*например*, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3). Следующие варианты осуществления данного изобретения частично основаны на открытии того, что включение по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества стабилизирует композицию жидкого анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части по сравнению с композициями, не содержащими по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения состав не содержит сахара

и/или сахарного спирта.

Как будет понятно специалисту в данной области техники, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, согласно вариантам осуществления данного изобретения, раскрытыми в настоящем описании, могут содержать, в дополнение к явно описанным компонентам, противоионы, внесенные посредством включения в состав раствора компонентов или агентов, изменяющих pH, например, натрий или калий, происходяшие из ацетатной соли, гидроксид натрия или гидроксид или хлорид калия, происходящие из хлорида кальция или соляной кислоты. В контексте данного изобретения стабильная при хранении композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, представляющая собой данный состав или по существу состоящая из него, может дополнительно содержать один или более противоионов, как того требует процесс приготовления состава при определенном pH.

В одном варианте осуществления данного изобретения устойчивое при хранении анти-PVRIG антитело и/или его антигенсвязывающая часть, обеспеченные настоящим изобретением, будут стабилизированными при температуре охлаждения (*m.e.* от 2°C до 10°C) в течение определенного периода времени. Например, в одном варианте осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, будут стабильными при хранении при температуре охлаждения в течение по меньшей мере 4 дней. В других вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной при температуре охлаждения в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 21, 28 и более дней. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель или более. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 1 месяца. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция будет стабильной в течение по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 и более месяцев. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение продолжительного периода времени при хранении при температуре от 2°C до 8°C.

В одном варианте осуществления данного изобретения, стабильные жидкие

фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные согласно настоящему изобретению, будут стабилизированы при комнатной температуре (*т.е.* от 18°C до 32°C) в течение определенного периода времени. Например, в одном варианте осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, будут стабильными при хранении при комнатной температуре в течение по меньшей мере 4 дней. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной при комнатной температуре в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 21, 28 и более дней. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель или более. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 1 месяца. В еще других вариантах осуществления данного изобретения, композиция будет стабильной в течение по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 и более месяцев. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, комнатная температура относится к между 20°C до 30°C, между 21°C до 29°C, между 22°C до 28°C, между 23°C до 27°C, между 24°C до 26 °C или около 25°C. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение продолжительного периода времени при хранении при температуре от 20°C до 25°C. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение продолжительного периода времени при хранении при температуре около 25°C.

В одном варианте осуществления данного изобретения, устойчивое при хранении анти-PVRIG антитело и/или его антигенсвязывающая часть, предложенные согласно настоящему изобретению, будут стабилизированы при повышенной температуре (*т.е.* от 32°C до 42°C) в течение определенного периода времени. Например, в одном варианте осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, будут стабильными при хранении при повышенной температуре в течение по меньшей мере 4 дней. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-

PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной при повышенной температуре в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 1, 12, 13, 14, 21, 28 и более дней. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель и более. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 1 месяца. В еще других вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 и более месяцев. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части будет стабильной в течение продолжительного периода времени при хранении при температуре от 35°C до 40°C.

В одном варианте осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части считается стабильной при хранении до тех пор, пока композиция сохраняет по меньшей мере 40% связывающей активности антитела, присутствующей в начале периода хранения (*например*, в момент времени = 0). В другом варианте осуществления данного изобретения, хранимая композиция считается стабильной до тех пор, пока композиция сохраняет по меньшей мере 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более связывающей активности антител, обнаруживаемой в начале периода хранения (*например*, в момент времени = 0). В одном варианте осуществления данного изобретения, связывающую активность антител измеряют с помощью любого анализа, известного в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части считается стабилизированной путем добавления стабилизирующего агента (*например*, по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества), когда композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части обладает по меньшей мере на 10% большей связывающей активности антитела после хранения в течение определенного периода времени по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизирующего агента или содержащей меньшее количество стабилизатора. В других вариантах осуществления данного изобретения, считается, что композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части стабилизирована добавлением стабилизирующего агента

(*например*, по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества), когда состав имеет по меньшей мере на 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% или на более высокий процент большую связывающую активность анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части после хранения в течение определенного периода времени по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизатора или содержащей меньшее количество стабилизатора.

В одном варианте осуществления данного изобретения, хранимая композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части считается стабильной до тех пор, пока процентное содержание анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, находящихся в агрегированном состоянии, остается на уровне не более чем 50%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, хранимая композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части считается стабильной до тех пор, пока процентное содержание анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, находящихся в агрегированном состоянии, остается на уровне не более чем 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 24%, 23%, 22%, 21%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или менее.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части считается стабилизированной путем добавления стабилизирующего агента (по меньшей мере одной аминокислоты, соли, и/или неионогенного поверхностно-активного вещества), когда композиция содержит по меньшей мере на 10% меньше анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, присутствующих в агрегированном состоянии после хранения в течение определенного периода времени, по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизирующего агента или содержащей меньшее количество стабилизирующего агента. В других вариантах осуществления данного изобретения, считается, что композиция анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части стабилизирована добавлением стабилизирующего агента (*например*, по меньшей мере одной аминокислоты, соли и/или неионогенного поверхностно-активного вещества), когда состав содержит по меньшей мере на 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% или на больший процент меньше количества анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части в агрегированном состоянии после хранения в течение определенного периода времени, по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела

и/или его антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизатора или содержащий меньшее количество стабилизатора.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, хранимая композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части считается стабильной до тех пор, пока композиция сохраняет по меньшей мере 40% исходной активности связывания (*например*, в момент времени = 0) после воздействия механического стресса. В другом варианте осуществления данного изобретения, хранимая композиция считается стабильной до тех пор, пока композиция сохраняет 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более начальной связывающей активности (*например*, в момент времени = 0) после механического воздействия. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, механическое воздействие представляет собой перемешивание (*например*, встряхивание).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части считается стабилизированной путем добавления стабилизирующего агента (*например*, по меньшей мере одной аминокислоты, соли или неионогенного поверхностно-активного вещества), когда композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части обладает по меньшей мере на 10% большей связывающей активностью после механического стресса по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизирующего агента или содержащей меньшее количество стабилизирующего агента. В других вариантах осуществления данного изобретения, считается, что композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части стабилизирована добавлением стабилизирующего агента (*например*, сахара, сахарного спирта или неионогенного поверхностно-активного вещества), если композиция содержит по меньшей мере на 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% или более высокий процент больше фуриновой активности после воздействия механического стресса по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизирующего агента или содержащей меньшее количество стабилизирующего агента. В конкретном варианте осуществления данного изобретения, механическое воздействие представляет собой перемешивание (*например*, встряхивание).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, хранимая композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части считается стабильной до тех пор, пока процентное содержание анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части в агрегированном состоянии остается на уровне не более 50% после механического

воздействия. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, хранимая композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части считается стабильной до тех пор, пока процентное содержание анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части в агрегированном состоянии, остается на уровне не более чем 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 24%, 23%, 22%, 21%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или менее после механического воздействия. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, механическое воздействие представляет собой перемешивание (*например*, встряхивание).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части считается стабилизированной путем добавления стабилизирующего агента (*например*, по меньшей мере одной аминокислоты, соли или неионогенного поверхностно-активного вещества), если композиция содержит по меньшей мере на 10% меньше анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части в агрегированном состоянии после механического стресса, по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизирующего агента или содержащей меньшее количество стабилизатора. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, считается, что композиция анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части стабилизирована добавлением стабилизирующего агента (*например*, по меньшей мере одной аминокислоты, соли или неионогенного поверхностно-активного вещества), когда состав содержит по мньшей мере на 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% или более высокий процент меньше количества анти- PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части в агрегированном состоянии после воздействия механического стресса, по сравнению с композицией анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части, не содержащей стабилизатора или содержащей меньшее количество стабилизатора. В конкретном варианте осуществления данного изобретения, механическое воздействие представляет собой перемешивание (*например*, встряхивание).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, высокостабилизированные составы по изобретению имеют срок хранения по меньшей мере 6 месяцев. Понятно, что этот срок хранения может быть при температуре замораживания (*т.е. от* -80°C, -25°C, 0°C), температуре охлаждения (от 0°C до 10°C) или при комнатной температуре (от 20°C до 32°C) в жидкой или лиофилизированной форме. В других аспектах высокостабилизированные составы по изобретению имеют срок хранения по меньшей мере 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 или 60 месяцев.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, срок хранения определяется процентом активности, оставшейся после хранения при любой из указанных выше температур в течение любого из указанных выше периодов времени. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, срок годности означает, что состав сохраняет по меньшей мере 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% активности фурина, измеренной с помощью любого из анализов, описанных в настоящей заявке или известных в данной области, по сравнению с активностью перед хранением в течение любого из указанных выше периодов времени при любой из указанных выше температур.

В некоторых вариантах осуществления, данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, при этом анти-PVRIG антитело представляет собой антитело с CDR, идентичными CDR, показанным на Фиг. 3;

(b) 25 мМ гистидина;

(c) 60 мМ NaCl;

(d) 100 мМ L-аргинина и

(e) 0,01% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, концентрация анти-PVRIG антитела составляет от 10 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 30 мг/мл, от 10 мг/мл до 25 мг/мл или от 15 мг/мл до 25 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, концентрация анти-PVRIG антитела составляет от 10 мг/мл до 40 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, концентрация анти-PVRIG антитела составляет от 15 мг/мл до 40 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, концентрация анти-PVRIG антитела составляет от 15 мг/мл до 30 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, концентрация анти-PVRIG антитела составляет от 10 мг/мл до 25 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, концентрация анти-PVRIG антитела составляет от 15 мг/мл до 25 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, концентрация анти-PVRIG антитела составляет от 10 мг/мл до 25 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, концентрация анти-PVRIG антитела составляет от 15 мг/мл до 25 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, концентрация анти-PVRIG антитела составляет от 20 мг/мл до 25 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, концентрация анти-PVRIG антитела составляет около 20 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления, данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, при этом анти-PVRIG антитело представляет собой антитело с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3;

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

B. Аминокислоты

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, анти-PVRIG антитела, включая антитело с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3), содержащему по меньшей мере одну аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, по меньшей мере одна аминокислота представляет собой гистидин. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аргинин. В некоторых вариантах осуществления, данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащему по меньшей мере две аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, по меньшей мере две аминокислоты представляют собой гистидин и аргинин.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 10 мМ до 80 мМ гистидина, от 15 мМ до 70 мМ гистидина, от 20 мМ до 60 мМ гистидина, от 20 мМ до 50 мМ гистидина или от 20 мМ до 30 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 10 мМ до 80 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 15 мМ до 70 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 60 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 50 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 30 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит около 25 мМ гистидина.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический

состав содержит от 10 мМ до 80 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 15 мМ до 70 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 60 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 50 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 30 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит около 25 мМ гистидина.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 30 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 40 мМ до 130 мМ L-аргинина, от 50 мМ до 120 мМ L-аргинина, от 60 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 70 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 80 мМ до 110 мМ L-аргинина или от 90 мМ до 110 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 30 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 40 мМ до 130 мМ L-аргинина, от 50 мМ до 120 мМ L-аргинина, от 60 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 70 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 80 мМ до 110 мМ L-аргинина или от 90 мМ до 110 мМ L-аргинина.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 140 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 30 мМ до 140 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 40 мМ до 130 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 50 мМ до 120 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 60 мМ до 110 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 70 мМ до 110 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 80 мМ до 110 мМ L-аргинина.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит от 90 мМ до 110 мМ L-аргинина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит около 100 мМ L-аргинина.

C. <u>Сахар и/или сахарный спирт</u>

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его

антигенсвязывающего фрагмента (*например*, анти-PVRIG антитела, включая антитело с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3), не содержащему сахара и/или сахарного спирта. В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, анти-PVRIG антитела, включая антитело с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3) не содержащему сахара. В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, анти-PVRIG антитела, включая антитело с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3) не содержащему сахарный спирт.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащему сахар и/или сахарный спирт. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар представляет собой трегалозу или сахарозу. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар представляет собой трегалозу. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар представляет собой сахарозу. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, сахар представляет собой только одну трегалозу или сахарозу, но не оба вещества.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, количество сахара составляет от около 0,5% до 10%, от 1% до 9,5%, от 1,5% до 9%, от 2,0% до 8,5%, от 2,5% до 8%, от 3,0% до 7,5%, 3,5% до 7%, от 4,0% до 6,5%, от 4,5% до 6% и/или от 4,5% до 5,5%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, количество сахара составляет от около 0,5% до 10%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, количество (содержание) сахара составляет от около 1% до 9,5%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, количество сахара составляет от около 1,5% до 9%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, количество сахара составляет от около 2,0% до 8,5%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, количество сахара составляет от около 2,5% до 8%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, количество сахара составляет от около 3,0% до 7,5%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, количество сахара составляет от около 3,5% до 7%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, количество сахара составляет от около 4,0% до 6,5%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, количество сахара составляет от около 4,5% до 6%. В некоторых вариантах осуществления данного

изобретения, количество сахара составляет от около 4,5% до 5,5%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, количество сахара составляет около 5%.

D. Неионогенные поверхностно-активные вещества

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, анти-PVRIG антитела, включая антитело с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3), содержащему неионогенное поверхностно-активное вещество. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные при хранении композиции анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента содержат неионогенное поверхностно-активное вещество, выбранное из неионогенного водорастворимого моноглицерида, неионогенного водорастворимого диглицерида, неионогенного водорастворимого триглицерида, неионогенных водорастворимых эфиров моножирных кислот полиэтиленгликоля, неионогенных водорастворимых эфиров дижирных кислот полиэтиленгликоля, неионогенных водорастворимых эфиров сорбитана и жирных кислот, неионогенных полигликолизированных глицеридов, неионогенных водорастворимых триблок-сополимеров и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, неионогенное поверхностно-активное вещество представляет собой полисорбат 80 (полиоксиэтилен (20) сорбитанмоноолеат).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,006% до 0,1% масс./об. полисорбата 80, от 0,007% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,008% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,009% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80 или от 0,01% до 0,06% масс./об. полисорбата 80 или от 0,009% до 0,05% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,006% до 0,1% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,007% до 0,09% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,008% до 0,08% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,009% до 0,09% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,01% до 0,08% масс./об. полисорбата 80. В

некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,01% до 0,06% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 0,009% до 0,05% масс./об. полисорбата 80. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит около 0,01% полисорбата 80.

E. Фармацевтически приемлемые соли

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, анти-PVRIG антитела, включая антитело с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3), содержащему соль, например, фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав, содержащий анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, обеспечиваемый настоящим изобретением, включает фармацевтически приемлемую соль в концентрации, к которой толерантно анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент во время хранения. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтически приемлемая соль представляет собой хлоридную соль. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтически приемлемая соль представляет собой моновалентную хлоридную соль. В более конкретном варианте осуществления данного изобретения, фармацевтически приемлемая соль представляет собой хлорид натрия, хлорид калия или их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 30 мМ до 100 мМ NaCl, от 30 мМ до 90 мМ NaCl, от 40 мМ до 80 мМ NaCl, от 30 мМ до 70 мМ гистидина или от 45 мМ до 70 мМ NaCl.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 30 мМ до 100 мМ NaCl. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 30 мМ до 90 мМ NaCl. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 40 мМ до 80 мМ

NaCl. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 30 мМ до 70 мМ гистидина. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав содержит от 45 мМ до 70 мМ NaCl. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, фармацевтический состав содержит около 60 мМ NaCl.

F. Буферные агенты

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, анти-PVRIG антитела, включая антитело с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3) который забуферен при физиологически приемлемом pH. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, физиологически приемлемый pH составляет от около 6,0 до около 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента имеет pH от 6 до 7.0. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента имеет pH 6, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 или 7,0. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,1 до 6,9. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,2 до 6,9. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,3 до 6,8. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,3 до 6,7. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,4 до 6,8. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,5 до 6,8. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH от 6,6 до 6,8. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH 6,3, 6,4, 6,5, 6,6 или 6,7. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, pH 6,5 +/- 0,2.

G. Способы разбавления водных композиций

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, способ включает добавление буфера для разведения для получения разбавленного стабильного жидкого фармацевтического состава, содержащего анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (*например*, анти-PVRIG антитело, включая антитело с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, буфер для разведения добавляют в соотношении от 1:1 (буфер для разведения:состав) до 1000:1 (буфер для разведения:состав). В другом варианте осуществления данного изобретения, буфер для разведения добавляют в соотношении от

1:1 буфер для разведения:состав до 500:1 (буфер для разведения:состав). В другом варианте осуществления данного изобретения, буфер для разведения добавляют в соотношении от 1:1 (буфер для разведения:состав) до 250:1 (буфер для разведения:состав). В другом варианте осуществления данного изобретения, буфер для разведения добавляют в соотношении от 1:1 (буфер для разведения:состав) до 200:1 (буфер для разведения:состав). В другом варианте осуществления данного изобретения, буфер для разведения добавляют в соотношении от 1:1 (буфер для разведения:состав) до 100:1 (буфер для разведения:состав). В другом варианте осуществления данного изобретения, буфер для разведения добавляют в соотношении от 1:1 (буфер для разведения:состав) до 50:1 (буфер для разведения:состав).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильный жидкий фармацевтический состав, содержащий анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент разводят от 1-кратного до 1000-кратного, от 1-кратного до 500-кратного, от 1-кратного до 250-кратного, от 1-кратного до 200-кратного, от 1-кратного до 100-кратного, от 1-кратного кратно до 50-кратного, от 1-кратного до 10-кратного, от 10-кратного до 1000-кратного, от 10-кратного до 500-кратного, от 10-кратного до 250-кратного, от 10-кратного до 200-кратного, от 10-кратного до 100-кратного, от 10-кратного до 50-кратного, от 50-кратного до 1000-кратного, от 50-кратного до 500-кратного, от 50-кратного до 250-кратного, от 50-кратного до 200-кратного, от 50-кратного до 100-кратного, от 100-кратного до 1000-кратного, от 100-кратного до 500-кратного, от 100-кратного до 250-кратного, от 100-кратного до 200-кратного, от 200-кратного до 1000-кратного, от 200-кратного до 500-кратного или от 200-кратного до 250-кратного разведения.

H. Анализы стабильности

Как обсуждается в настоящем описании, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (*например*, анти-PVRIG антитело, включая антитело с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3), проявляют улучшенную стабильность по сравнению с контрольными составами. В одном варианте осуществления данного изобретения, улучшенная стабильность включает сохранение более высокого процента активности связывания и/или отсутствие снижения активности связывания по сравнению с контрольными составами в различных анализах стабильности. Такие анализы можно применять для определения того, является ли состав высокостабилизированным составом. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, высокостабилизированный состав содержит по меньшей мере на 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% 90%, 95%, 96%, 97%,

98%, 99% или на больший процент более высокую активность, чем активность контрольного состава, при оценке с помощью любого из анализов стабильности, обсуждаемых в настоящем описании или известных в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, тестируются в стрессорных условиях, таких как хранение при высокой температуре, перемешивание, циклы замораживания/оттаивания или их комбинации. После воздействия таких стрессоров составы анализируют с применением любого из способов, раскрытых в настоящем описании или известных в данной области техники, для определения стабильности в этих условиях.

A280 и анализ внешнего вида

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анализ A280 с помощью SoloVPE можно применять для изучения внешнего вида стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анализ SoloVPE можно применять для изучения концентраций стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

A280: аминокислоты, содержащие ароматические боковые цепи, демонстрируют сильное поглощение УФ-излучения при длине волны 280 нм. Как только коэффициент абсорбции для данного белка установлен, концентрация белка в растворе может быть рассчитана по его абсорбции. Метод предназначен для определения концентрации белка путем измерения его оптической плотности при 280 нм с помощью прибора SoloVPE без разбавления (https://www.ctechnologiesinc.com/products/solovpe).

Внешний вид: определение внешнего вида образца оценивается путем помещения образца в контролируемый источник света и наблюдения за внешним видом материала. Аккуратно встряхивают раствор и определяют, изменится ли внешний вид при просмотре на черно-белом фоне. Используют такие прилагательные, как «прозрачный», «мутный» или «слегка мутный», чтобы оценить прозрачность. Следует быть точными в отношении цвета материала. Если материал бесцветный, это указывается в результате (т.е. прозрачный, бесцветный раствор), а также указывается физическое состояние образца (т.е. жидкость или замороженная жидкость)

Анализ связывания

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, можно проводить анализ связывания для изучения активности стабильных жидких фармацевтических

составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

Анализ LabChip

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анализ LabChip применяется для проверки чистоты, включая, например, чистоту IgG, а также процентное содержание HC + LC для стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, демонстрируют процент чистоты IgG более чем 94%, более чем 95%, более чем 96%, более чем 97% или более чем 98%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, демонстрируют проценты чистоты IgG от около 95% до 98%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, демонстрируют процент чистоты IgG от около 96% до 97%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, демонстрируют процентное содержание HC+LC от около 96% до 100%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмен, демонстрируют процентное содержание HC+LC от около 97% до 100%. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы, содержащие анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, демонстрируют процентное содержание HC+LC от около 98% до 100%.

Анализ cIEF

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, капиллярное изоэлектрическое фокусирование может применяться для анализа стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, на наличие дополнительных составляющих, включая, например, минорные кислотные составляющие.

Анализ MFI

Антитела могут образовывать невидимые частицы в ответ на стрессорные условия, такие как тепло, циклы замораживания/оттаивания и перемешивание. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анализ изображений микропотоков (MFI -

microflow imaging) может применяться для исследования стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, на образование частиц в ответ на стрессорные условия. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, стабильные жидкие фармацевтические составы анти-PVRIG антитела или его антигенсвязывающего фрагмента способны сохранять стабильными анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент при этих стрессорных условиях и противодействовать образованию частиц. MFI можно использовать для оценки количества частиц в различных диапазонах размеров (< 2 мкм, < 5 мкм, < 10 мкм и < 25 мкм) в различных составах в стрессорных условиях. Как правило, данные MFI могут быть использованы для выбора подходящего состава на основе образования наименьшего количества частиц/мл для всех размеров частиц во всех временных точках, условиях и во всех композициях.

Анализ SEC

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, эксклюзионная хроматография по размеру (SEC - size exclusion chromatography) может применяться для анализа стабильных жидких фармацевтических составов, содержащих анти-PVRIG антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Данные SEC показали высокую мол. массу (HMW) во всех временных точках и условиях; однако она оставалась стабильной на уровне около 1%. Низкая мол. масса (LMW) обнаруживалась в условиях, ускоряющих разложение, и при 2–8°C в течение 8 недель. В условиях 40°C LMW увеличилась от около 1% до 3% с недели 1 по неделю 2.

I. Выбранные варианты составов

В некоторых вариантах осуществления, изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления, данное изобретение относится к

стабильному жидкому фармацевтическому составу анти-PVRIG антитела, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

(a) анти-PVRIG антитело;

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления, данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления, данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления, данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, содержащую:

a) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, где VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получен из IgG4; и

ii) легкую цепь, содержащую:

a) VL-CL, где VL из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 антитела человека;

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления, данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, содержащую:

a) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, где VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

ii) легкую цепь, содержащую:

a) VL-CL, где VL получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления, данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь из

CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления, данное изобретение относится к стабильному жидкому фармацевтическому составу, содержащему:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

VI. ВВЕДЕНИЕ СОСТАВОВ АНТИ-PVRIG АНТИТЕЛ

Введение фармацевтической композиции, содержащей анти-PVRIG антитела по данному изобретению (*например*, анти-PVRIG антитела, включая антитела с CDR, идентичными CDR, показанным на Фиг. 3), предпочтительно в форме стерильного водного раствора, может осуществляться различными способами, как известно в данной области техники. Белковые терапевтические средства часто доставляют путем в/в инфузии. Антитела по данному изобретению также могут быть доставлены с использованием таких способов. Например, внутривенное введение может осуществляться путем внутривенной инфузии 0,9% хлорида натрия в качестве инфузионного носителя. Такие методики описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed., 1980.

Количества доз и частоты введения в предпочтительных вариантах осуществления данного изобретения выбирают так, чтобы они были терапевтически или профилактически эффективными. Как известно в данной области техники, может понадобится поправка на деградацию белка, системную и локальную доставку и скорость

синтеза новой протеазы, а также возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, рацион, время введения, взаимодействие с лекарственным средством и степень тяжести патологии, при этом специалисты в данной области техники могут определить вышеуказанную коррекцию с помощью обычных экспериментов. Для лечения пациента может быть введена терапевтически эффективная доза варианта Fc согласно данному изобретению. Под термином «терапевтически эффективная доза» в данном документе подразумевается доза, которая вызывает эффекты, с целью которых она вводится.

VII. ДОЗИРОВАНИЕ

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части по данному изобретению могут быть приготовлены для введения, в том числе в виде состава стандартной дозировки. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,01 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,02 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,03 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,04 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,05 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,06 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,07 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,08 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,09 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе

0,1 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,2 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,3 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,5 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 0,8 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 1 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 2 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 3 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 4 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 5 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 6 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 7 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 8 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 9 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 10 мг/кг

анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе 20 мг/кг анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 20 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе около 20 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе около 20 мг/кг каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG антитела и/или его антигенсвязывающей части вводят в дозе около 20 мг/кг в/в каждые 4 недели. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 0,1 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 1 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 2 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 3 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 4 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 5 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 7 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 8 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 9 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, состав вводят в дозе от около 20 мг/кг анти-PVRIG антитела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, препарат вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг анти-PVRIG

антитела.

A. Выбранное дозирование с вариантами осуществления данного состава

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

(a) анти-PVRIG антитело;

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-

PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, содержащую:

a) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, где VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

ii) легкую цепь, содержащую:

a) VL-CL, где VL получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, содержащую:

a) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, где VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

ii) легкую цепь, содержащую:

a) VL-CL, где VL получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к введению стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, состав вводят с анти-PD-1 антителом.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, анти-PD-1 антитело представляет собой антитело, выбранное из группы, состоящей из пембролизумаба и ниволумаба.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб. В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, анти-PD-1 антитело, представляющее собой ниволумаб, вводят в дозе около 360 мг или 480 мг. В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, анти-PD-1 антитело, представляющее собой ниволумаб, вводят в дозе около 360 мг. В некоторых

вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, анти-PD-1 антитело, представляющее собой ниволумаб, вводят в дозе около 480 мг.

В некоторых вариантах осуществления стабильного жидкого фармацевтического состава, анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб.

VIII. СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ СОСТАВОВ АНТИ-PVRIG АНТИТЕЛ

A. Терапевтическое применение

Анти-PVRIG антитела (*например*, анти-PVRIG антитела, в том числе с CDR, идентичными показанным на Фиг. 3) находят применение при лечении пациентов, например, людей, как правило, имеющих состояние, ассоциированное с PVRIG. Используемый в настоящем описании термин «лечение» относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам, которые в данном примере относятся к лечению рака; однако также, как описано ниже, применение антител и фармацевтических композиций также предусмотрено для лечения инфекционных заболеваний, сепсиса и/или аутоиммунных состояний и/или для ингибирования нежелательной иммунной активации, которая следует за генной терапией. В число нуждающихся в лечении входят те, кто уже болен раком, а также те, у кого рак необходимо предотвратить. Следовательно, у млекопитающего, подлежащего лечению согласно настоящему изобретению, может быть диагностирован рак, или оно может быть предрасположено или восприимчиво к раку. Используемый в настоящем описании термин «лечение» относится к предотвращению, отсрочке начала, излечению, обращению, ослаблению, облегчению, минимизации, подавлению, прекращению вредных эффектов или стабилизации заметных симптомов вышеописанных раковых заболеваний, нарушений или состояний. Это также включает лечение рака, как описано выше. Под «лечением» подразумевается снижение тяжести заболевания, уменьшение частоты эпизодов заболевания, уменьшение продолжительности таких эпизодов, уменьшение тяжести таких эпизодов, замедление/уменьшение роста или пролиферации раковых клеток, замедление прогрессирования по меньшей мере одного симптома, улучшение по меньшей мере одного измеримого физического параметра и т.п. Например, иммуностимулирующие иммунные молекулы анти-PVRIG должны стимулировать Т-клеточный или NK-клеточный или цитокиновый иммунитет против клеток-мишеней, *например,* раковых, инфицированных или патогенных клеток, и тем самым излечивать раковые или инфекционные заболевания путем истощения клеток, вовлеченных в патологическое состояние. И наоборот, иммуноингибиторные иммунные молекулы анти-PVRIG должны снижать активность Т-клеток или NK-клеток и/или секрецию провоспалительных цитокинов, которые участвуют в патологии некоторых иммунных заболеваний, таких как

аутоиммунные, воспалительные или аллергические состояния и, таким образом, облегчают или излечивают патологическое заболевание и разрушение тканей, которые могут быть связаны с такими состояниями (например, разрушение суставов, связанное с состояниями ревматоидного артрита).

Антитела PVRIG по данному изобретению обеспечиваются в терапевтически эффективных дозах. «Терапевтически эффективная доза» иммунной молекулы анти-PVRIG в соответствии по меньшей мере с некоторыми вариантами осуществления данного изобретения предпочтительно приводит к уменьшению тяжести симптомов заболевания, увеличению частоты и продолжительности бессимптомных периодов заболевания, увеличению продолжительности жизни, ремиссии заболевания или предотвращению, или уменьшению ухудшения или инвалидности из-за болезни. Например, для лечения PVRIG-положительных опухолей «терапевтически эффективная доза» предпочтительно ингибирует рост клеток или рост опухоли по меньшей мере на около 20%, более предпочтительно по меньшей мере на около 40%, еще более предпочтительно по меньшей мере на около 60%, и еще более предпочтительно по меньшей мере на около 80% по сравнению с субъектами, не получавшими лечения. Способность соединения ингибировать рост опухоли можно оценить на системных модельных животных для прогнозирования эффективности при опухолях человека. В качестве альтернативы, подобное свойство композиции может быть оценено путем исследования ингибирующей способности соединения с помощью анализов *in vitr*o, известных специалисту в данной области техники. Терапевтически эффективное количество терапевтического соединения может приводить к уменьшению размера опухоли или иным образом ослаблять симптомы у субъекта.

Средний специалист в данной области техники сможет определить такие количества на основе таких факторов, как размеры субъекта, тяжесть симптомов у субъекта и конкретная используемая композиция или выбранный способ введения.

1. Лечение рака

Составы анти-PVRIG антител по данному изобретению находят особое применение при лечении рака. В целом, антитела по данному изобретению являются иммуномодулирующими в том смысле, что вместо того, чтобы непосредственно атаковать раковые клетки, анти-PVRIG антитела по данному изобретению стимулируют иммунную систему, как правило, путем ингибирования действия PVRIG. Таким образом, в отличие от терапии, направленной на опухоль, которая основана на ингибировании молекулярных путей, имеющих решающее значение для роста и развития опухоли, и/или истощение опухолевых клеток, иммунотерапия рака направлена на стимулирование собственной

иммунной системы пациента для устранения раковых клеток, обеспечивая продолжительное разрушение опухоли. Для иммунотерапии рака можно применять различные подходы, в число которых входят терапевтические противораковые вакцины для индукции опухолеспецифических Т-клеточных ответов и иммуностимулирующие антитела (то есть антагонисты ингибирующих рецепторов = иммунных контрольных точек) для удаления иммуносупрессивных путей.

Клинические ответы при направленной терапии или традиционной противораковой терапии имеют тенденцию быть кратковременными, поскольку у раковых клеток развивается резистентность, и возникает рецидив опухоли. Тем не менее, клиническое применение противораковой иммунотерапии в последние несколько лет показало, что этот способ терапии может характеризоваться длительными клиническими ответами, что оказывает существенное влияние на долгосрочную выживаемость. Однако, хотя ответы носят долгосрочный характер, на иммунотерапию отвечает только небольшое количество пациентов (в отличие от обычной или целевой терапии, когда большое количество пациентов имеет ответы, но ответы являются неустойчивыми).

К тому времени, когда опухоль обнаруживается клинически, она уже обошла иммунную систему защиты, приобретя иммунорезистентные и иммуносупрессивные свойства и создав микросреду иммуносупрессивной опухоли посредством различных механизмов и множества иммунных клеток.

Соответственно, анти-PVRIG антитела согласно данному изобретению являются полезными в лечение рака. Из-за природы иммуноонкологического механизма действия, PVRIG не обязательно должен сверхэкспрессироваться или коррелировать с конкретным типом рака; то есть цель состоит в том, чтобы анти-PVRIG антитела подавляли активацию Т-клеток и NK-клеток таким образом, чтобы рак подвергался атаке со стороны иммунной системы.

В контексте настоящего описания, термин «рак» в широком смысле относится к любому опухолевому заболеванию (инвазивному или метастатическому), характеризующемуся аномальным и неконтролируемым делением клеток, вызывающим злокачественный рост или развитие опухоли (например, нерегулируемый рост клеток). Термин «рак» или «раковый», в контексте настоящего описания, следует понимать, как охватывающий любое опухолевое заболевание (будь то инвазивное, неинвазивное или метастатическое), которое характеризуется аномальным и неконтролируемым делением клеток, вызывающим злокачественный рост или развитие опухоли, неограничивающие примеры которых описаны в настоящей заявке. Указанный термин включает в себя любое физиологическое состояние у млекопитающих, которое обычно характеризуется

нерегулируемым ростом клеток.

В некоторых вариантах осуществления, составы анти-PVRIG по данному изобретению можно применять для лечения солидных опухолей (включая, например, рак легкого, печени, молочной железы, головного мозга, желудочно-кишечного тракта) и рака крови (включая, например, лейкоз и предлейкозные расстройства, лимфому, заболевания плазматических клеток), карциномы, лимфомы, бластомы, саркомы и лейкоза или лимфоидных злокачественных новообразований. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, рак является ранним. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, рак является поздним (в том числе метастатическим). В некоторых вариантах осуществления, рак, поддающийся лечению по данному изобретению, включает рак, который экспрессирует или не экспрессирует PVRIG, и, кроме того, включает неметастатический или неинвазивный, а также инвазивный или метастатический рак, включая рак, при котором экспрессия PVRIG иммунными, стромальными, или больными клетками подавляет противоопухолевые ответы и антиинвазивные иммунные ответы. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, составы анти-PVRIG можно применять для лечения васкуляризированных опухолей. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, рак, подлежащий лечению с применением составов анти-PVRIG по данному изобретению, включает карциному, лимфому, саркому и/или лейкоз. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, рак, подлежащий лечению с применением составов анти-PVRIG по данному изобретению, включает меланому, немеланомный рак кожи (плоскоклеточный и базальноклеточный рак), мезотелиому, плоскоклеточный рак, рак легкого, включая мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, саркому мягких тканей, саркому Капоши, аденокарциному легкого, плоскоклеточный рак легкого, рак брюшины, рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак печени (включая HCC), рак желудка (включая рак желудочно-кишечного тракта), рак поджелудочной железы, глиобластому, рак шейки матки, рак яичников, уротелиальный рак, рак мочевого пузыря, гепатому, глиому, рак головного мозга (а также отек, например, связанный с опухолями головного мозга), рак молочной железы (включая, например, трижды негативный рак молочной железы), рак яичка, герминогенные опухоли яичка, рак толстой кишки, колоректальный рак (CRC), колоректальный рак MSS (MSS-CRC; включая рефракторный колоректальный MSS; MSS = микросателлитный стабильный статус), первичный рак брюшины, микросателлитный стабильный первичный рак брюшины, устойчивый к платине микросателлитный стабильный первичный рак брюшины, CRC (MSS неизвестен), рак прямой кишки, рак эндометрия (включая карциному эндометрия), рак матки, рак слюнных желез, рак почки,

почечно-клеточный рак (RCC), почечно-клеточную карциному (RCC), рак предстательной железы, рак вульвы, рак щитовидной железы, карциному печени, карциноидную карциному, рак головы и шеи, В-клеточную лимфому (включая неходжкинскую лимфому, а также низкодифференцированную/фолликулярную неходжкинскую лимфому (NHL - non-Hodgkin's lymphoma), малую лимфоцитарную (SL) NHL, промежуточную/фолликулярную NHL, диффузную NHL средней степени, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, иммунобластную NHL высокой степени, лимфобластную NHL высокой степени, мелкоклеточную NHL с нерасщепленными клетками высокой степени, общую болезнь NHL, лимфому мантийных клеток, лимфому, связанную со СПИДом, и макроглобулинемию Вальденстрема), лимфому Ходжкина (HD - Hodgkin’s lymphoma), хронический лимфолейкоз (CLL - chronic lymphocytic leukemia), острый лимфобластный лейкоз (ALL - acute lymphoblastic leukemia), Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз (T-ALL), острый миелоидный лейкоз (AML - Acute myeloid leukemia), лейкоз ворсистых клеток, хронический миелобластный лейкоз, множественную миелому, посттрансплантационное лимфопролиферативное заболевание (PTLD - post-transplant lymphoproliferative disorder), аномальную пролиферацию сосудов, связанную с факоматозами, синдром Мейгса, рак клеток Меркеля, MSI-высокий рак, мутантные опухоли KRAS, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, адено-кистозный рак (включая адено-кистозную карциному), злокачественную меланому, рак поджелудочной железы, аденокарциному поджелудочной железы, рак яичников (включая карциному яичников), мезотелиому плевры, нейроэндокринный рак легких (включая мезотелиому плевры, нейроэндокринную карциному легких), NSCL (крупноклеточный), крупноклеточную аденокарциному NSCLC, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), плоскоклеточный NSCLC, плоскоклеточный рак шейки матки (SCC шейки матки), плоскоклеточный анальный рак (анальный SCC), нейроэндокринную карциному легких, карциному неизвестной первичной формы, рак желчного пузыря, злокачественную меланому, мезотелиому плевры и/или миелодиспластический синдром (MDS - Myelodysplastic syndromes).

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, рак, подлежащий лечению с применением составов анти-PVRIG по данному изобретению, включает рак, выбранный из группы, состоящей из рака предстательной железы, рака печени (HCC), колоректального рака (CRC - colorectal cancer), колоректального рака MSS (MSS-CRC; включая рефракторный колоректальный MSS), CRC (MSS неизвестен), рака яичников (включая карциному яичников), рака эндометрия (включая карциному эндометрия), рака молочной железы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака шейки матки, рака

головы и шеи, рака щитовидной железы, рака яичек, рака уротелия, рака легких, меланомы, немеланомного рака кожи (плоскоклеточный и базально-клеточный рак), глиомы, почечно-клеточного рака (RCC - renal cell cancer), почечно-клеточного рака (RCC), лимфомы (неходжкинская лимфома (NHL - non-Hodgkins' lymphoma) и лимфомы Ходжкина (HD - Hodgkin's lymphoma)), острого миелоидного лейкоза (AML - Acute myeloid leukemia), Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (T-ALL), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, опухоли зародышевых клеток яичка, мезотелиомы, рака пищевода, тройного негативного рака молочной железы, рака из клеток Меркеля, MSI-высокого рака, мутантных опухолей KRAS, Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, мезотелиомы плевры, анального SCC, нейроэндокринного рака легкого (включая нейроэндокринную карциному легкого), NSCLC, NSCL (крупноклеточный), крупноклеточного NSCLC, плоскоклеточного NSCLC, SCC шейки матки, злокачественной меланомы, рака поджелудочной железы, аденокарциномы поджелудочной железы, адено-кистозного рака (включая адено-кистозную карциному), первичного рака брюшины, стабильного микросателлитного первичного рака брюшины, резистентного к платине микросателлитного стабильного первичного рака брюшины и/или миелодиспластических синдромов (MDS - Myelodysplastic syndrome).

Термин «терапия рака» в контексте настоящего изобретения относится к любому способу, с помощью которого предотвращают или лечат рак, или ослабляют один или большее количество симптомов рака. Как правило, такие способы лечения включают введение иммуностимулирующих анти-PVRIG антител (в том числе антигенсвязывающих фрагментов) либо отдельно, либо в сочетании с химиотерапией, или лучевой терапией, или другими биологическими средствами для усиления их активности, то есть индивидуумам, у которых экспрессия PVRIG подавляет противоопухолевые реакции и эффективность химиотерапии или лучевой терапии, или биологическую эффективность.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, анти-PVRIG антитела применяются в комбинации с антагонистическими антителами, нацеленными на PD-1 (*например*, с анти-PD-1 антителами), которые включают, например, но не ограничиваются указанными, ниволумаб и/или пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления, антитело анти-PD-1 представляет собой антитело, выбранное из группы, состоящей из ниволумаба и пембролизумаба. В некоторых вариантах реализации данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб, вводимый в дозе 360 мг. В некоторых вариантах

осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб, вводимый в дозе 360 мг в/в. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб, который вводят в дозе 360 мг в/в в течение 3 недель (*например*, 360 мг в/в Q3 недели). В некоторых вариантах реализации данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб, вводимый в дозе 480 мг. В некоторых вариантах реализации данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб, вводимый в дозе 480 мг в/в. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анти-PD-1 антитело представляет собой ниволумаб, который вводят в дозе 480 мг в/в в течение 3 недель (*например*, 480 мг в/в Q3 недели). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения, субъект, которому вводили анти-PVRIG антитело в комбинации с анти-PD-1 антителом, исчерпал всю доступную стандартную терапию, включая, например, но не ограничиваясь этим, ECOG 0-1, предшествующее анти-PD-1 антитело, предшествующее анти-PD-L1, предшествующие анти-CTLA-4, предшествующие OX-40 и/или предшествующие CD137 терапии.

2. <u>Выбранное монотерапевтическое лечение с вариантами данного состава</u>

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 легкой из цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

(a) анти-PVRIG антитело;

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи из легкой цепи

CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, содержащую:

a) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, где VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

ii) легкую цепь, содержащую:

a) VL-CL, где VL получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, содержащую:

a) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, где VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

ii) легкую цепь, содержащую:

a) VL-CL, где VL получен CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

3. Выбранное комбинированное лечение с вариантами данного состава

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

(a) анти-PVRIG антитело;

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного

жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, содержащую:

a) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, где VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

ii) легкую цепь, содержащую:

a) VL-CL, где VL получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, содержащую:

a) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, где VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

ii) легкую цепь, содержащую:

a) VL-CL, где VL получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного

жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 легкой из цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела

содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, содержащую:

a) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, где VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

ii) легкую цепь, содержащую:

a) VL-CL, где VL получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, содержащую:

a) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, где VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

ii) легкую цепь, содержащую:

a) VL-CL, где VL получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела

содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 360 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2

и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) вариабельный домен тяжелой цепи из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, содержащую:

a) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, где VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

ii) легкую цепь, содержащую:

a) VL-CL, где VL получен CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, содержащую:

a) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, где VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4) и где область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 получена из IgG4; и

ii) легкую цепь, содержащую:

a) VL-CL, где VL получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9) и где CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека;

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к лечению рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения 480 мг ниволумаба и стабильного жидкого фармацевтического состава анти-PVRIG антитела, при этом анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг, и при этом стабильный жидкий состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, содержащее:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1: ТЕСТИРОВАНИЕ СОСТАВА АНТИ-PVRIG АНТИТЕЛ

Анти-PVRIG антитело, которое было приготовлено в каждом буфере (A и B), смешивали с соответствующими эксципиентами для получения 20 составов, перечисленных на Фиг. 6. Каждый состав был обозначен идентификационным номером (ID).

Приготовленный материал подвергали стрессорному воздействию и хранили в условиях, показанных на Фиг. 7A-7B.

Процедурные этапы исследования состава

Требования к образцам

Для каждого условия требовалось в общей сложности два флакона для тестирования с одним дополнительным запасным флаконом. Один флакон требовался для LabChip (восстановленного и невосстановленного), cIEF, концентрации (A280нм), анализа

эффективности и анализов SEC-HPLC в CPS. Другой флакон был необходим для анализа внешнего вида и MFI. Соответствующие образцы были извлечены в указанные моменты времени и заморожены при < -60 °C до начала анализа, за исключением образцов для MFI и проверки внешнего вида. Тестирование MFI и внешнего вида было проведено сразу после извлечения.

Образцы нулевой временной точки (T0) из 20 приготовленных составов были взяты из исходного запаса флаконов, хранящихся при 2–8°C, и заморожены при < -60°C до анализа (или анализировались немедленно в случае внешнего вида и тестирования MFI).

Изучение замораживания/оттаивания при хранении при температуре < -60°C

Для каждого цикла три флакона на состав (всего 60 флаконов) помещали на хранение при < -60°C. Минимум через 16 часов все три флакона на состав извлекали из условий хранения при температуре < -60°C (всего 60 флаконов) и оставляли нагреваться до комнатной температуры в течение 3–5 часов до оттаивания.

После помещения в морозильную камеру для цикла 3 три флакона не размораживали при комнатной температуре до тех пор, пока они не были готовы к началу тестирования. Затем образцы доводили до комнатной температуры перед анализом.

Образцы анализировали, как описано в этом примере.

Перемешивание

По три флакона каждого из 20 составов (всего 60 флаконов) помещали и фиксировали на шейкере, вращающемся со скоростью ~200 об/мин при комнатной температуре. Флаконы встряхивали не менее 24 часов и не более 48 часов. Все флаконы хранились замороженными при < -60°C до анализа, за исключением MFI и проверки внешнего вида, которые проводились немедленно. Перед анализом образцы уравновешивали до комнатной температуры.

Образцы анализировали, как описано в этом примере.

Хранение при температуре 2–8°C в течение 8 недель (тестирование через 0, 2, 4 и 8 недель)

От каждого из 20 составов было взято по двенадцать флаконов (всего 240 флаконов, включая флаконы T0), которые хранили при температуре 2–8 °C. Два флакона в T0 были немедленно проанализированы на MFI и внешний вид. Все остальные образцы были помечены с указанием температуры и времени и хранились в замороженном виде при температуре < -60°C до проведения анализа. Перед анализом образцы доводили до комнатной температуры.

В каждый последующий момент времени брали по три флакона на состав из флаконов, хранящихся при температуре 2–8 °C, маркировали с указанием температуры и

момента времени и хранили в замороженном виде при температуре < -60°C до проведения анализа, за исключением MFI и проверки внешнего вида, которые проводили немедленно. Перед анализом образцы доводили до комнатной температуры.

Образцы анализировали, как описано в этом примере.

Хранение при комнатной температуре (25°C) в течение 4 недель (тестирование через 2 и 4 недели)

От каждого из 20 составов брали по шесть флаконов (всего 120 флаконов) и хранили при температуре окружающей среды (25°C).

В каждый момент времени брали по три флакона на состав из флаконов, хранящихся при комнатной температуре, маркировали с указанием температуры и момента времени и замораживали при температуре < -60°C до анализа, за исключением MFI и проверки внешнего вида, которые проводились немедленно. Перед анализом образцы доводили до комнатной температуры.

Образцы анализировали, как описано в этом примере.

Хранение при температуре 40°C в течение 2 недель (тестирование через 1 и 2 недель)

От каждого из 20 составов брали по шесть флаконов (всего 120 флаконов) и хранили при 40°C.

В каждый момент времени брали по три флакона на состав из флаконов, хранящихся при 40°C, маркировали с указанием температуры и момента времени и хранили в замороженном виде при < -60°C до проведения анализа, за исключением проверки внешнего вида MFI, которые проводились немедленно. Перед анализом образцы доводили до комнатной температуры.

Образцы анализировали, как описано в этом примере.

План и расписание тестирования

Брали образец состава при каждом условии и проводили испытание.

Результаты

Все данные для каждого состава и момента времени обеспечивались на протяжении всего исследования и представлены на Фиг. 8-78. Результаты обсуждаются в этом примере. Каждый состав оценивали и сравнивали с изучаемыми условиями.

На фигурах графически представлены результаты критических анализов, которые были собраны и проанализированы. Важнейшими анализами для определения подходящего состава были SEC, cIEF и MFI. Высокомолекулярные и низкомолекулярные виды SEC отслеживались на протяжении всего исследования (Фиг. 11, 18, 25, 32, 39, 46, 53, 60, 67 и 74). Результаты cIEF были получены на протяжении всего исследования (Фиг.

12, 19, 26, 33, 40, 47, 54, 61, 68 и 75). Наконец, отслеживали количество частиц/мл различных размеров путем MFI (Фиг. 13, 20, 27, 34, 41, 48, 55, 62, 69 и 76).

Обсуждение

A280 и анализ внешнего вида

A280 от SoloVPE и тестирование внешнего вида не показали существенных изменений в моменте времени и составах и не применялись для определения окончательного состава.

Во время анализа способом замораживания/оттаивания SoloVPE показал различные концентрации во всех различных составах, выходящие за пределы спецификаций прибора. Извлекали запасные флаконы и повторяли анализ. Однако анализ по-прежнему показывал разные результаты. Поэтому анализ одних и тех же образцов были повторен с поправкой на светорассеяние 320 нм. Результаты A280 показали гораздо меньшую изменчивость (Фиг. 34). Данные замораживания/оттаивания показывают, что для этого продукта может потребоваться коррекция 320 нм после многократного замораживания/оттаивания. Другие условия не давали такой изменчивости. Поскольку этот продукт будет подвергаться длительному исследованию стабильности, потребуется, чтобы для этого продукта использовалась коррекция 320 нм, когда SoloVPE применяется для определения концентрации.

Анализ связывания

Была проведена оценка анализа связывания, однако анализ связывания не продемонстрировал значительных изменений активности в зависимости от условий или составов. Наблюдаемые изменения находились в пределах вариабельности метода. Следовательно, данный метод показывает, что молекула стабильна с точки зрения активности связывания. Данный метод не был решающим при принятии решения о форме состава.

Анализ LabChip

Оценка данных LabChip показала, что чистота IgG и процентное содержание HC + LC были довольно стабильными во времени и условиях. Проценты чистоты IgG варьировали от 96 до 97%, а проценты HC+LC варьировали от 98 до 100%. Поскольку не было значительных изменений в результатах во времени, данный метод не использовался для определения состава.

Анализ cIEF

После получения результатов анализа cIEF при 40°C в течение 1 недели было обнаружено, что в составах A, B9 и B10 присутствовали дополнительные минорные кислотные примеси. Это привело к удалению этих составов из рекомендаций на данном

этапе исследования. Однако после этой временной точки все ускоряющие условия и временная точка 4 недели при температуре 2–8°C и более показали присутствие указанных минорных прмесей в различных количествах. Таким образом, при выборе подходящего состава контролировали указанные минорные примеси на стабильность в ускоряющих условиях.

Анализ MFI

Белок может образовывать невидимые частицы в ответ на стрессорные условия, такие как тепло, циклы замораживания/оттаивания и перемешивание. Оптимальный состав способен обеспечить стабилизацию белка в этих стрессорных условиях и предотвратить образование частиц. MFI использовали для оценки количества частиц в различных диапазонах размеров (< 2 мкм, < 5 мкм, < 10 мкм и < 25 мкм) в различных составах в стрессорных условиях. Данные MFI были использованы для выбора подходящего состава на основе образования наименьшего количества частиц/мл для всех размеров частиц во всех временных точках, условиях и составах.

Анализ SEC

Данные SEC показали HMW во всех временных точках и условиях; однако она оставалась стабильной на уровне около 1%. LMW обнаруживалась в ускоряющих условиях и при 2–8°C в течение 8 недель. В условиях 40°C LMW увеличилась от около 1% до 3% с недели 1 по неделю 2. Этот показатель будет отслеживаться на протяжении всей программы, а позже его необходимо будет идентифицировать с помощью дальнейшего анализа характеристик. При выборе подходящего состава, LMW и HMW оценивали на стабильность во всех временных точках и условиях.

Заключение

С помощью указанных данных было определено, что буфер, обозначенный как B4 (25 мМ гистидина, 60 мМ NaCl, 100 мМ L-аргинина, 0,01% PS 80, pH 6,5), будет окончательным составом. Этот состав имел стабильные результаты SEC с низкими HMW и LMW. Кроме того, данные MFI показали меньшее количество частиц/мл для всех размеров частиц. Данные LabChip показали, что чистота IgG и процентное содержание HC + LC были стабильными в составе B4 по сравнению с T0. Поэтому токсикологическая партия была приготовлена в этом буфере.

ПРИМЕР 2: СОСТАВ АНТИ-PVRIG АНТИТЕЛ

ОПИСАНИЕ И СОСТАВ РАСТВОРА ДЛЯ ИНФУЗИИ

Состав предоставлен в виде стерильной жидкой лекарственной формы без консервантов в концентрации 20 мг/мл в 10R флаконе из прозрачного боросиликатного стекла типа I с серой бромбутил резиновой пробкой и алюминиевой откидной крышкой.

Флаконы заполнены до целевого объема 10 мл. Препарат хранится и транспортируется в замороженном виде при температуре -20°C. Перед применением флаконы оттаивают при температуре окружающей среды, перемешивают легким встряхиванием. Для введения пациентам состав разбавляют 0,9% хлоридом натрия.

СИСТЕМА ЗАКРЫТИЯ КОНТЕЙНЕРОВ

Для состава существует единая система укупорки контейнера, состоящая из 10R флакона из прозрачного боросиликатного стекла типа I, 20 мм бромбутил резиновой пробки и 20 мм алюминиевой откидной крышки.

Состав был приготовлен путем оттаивания и объединения лекарственной субстанции с последующей 0,22 мкм стерильной фильтрацией и розливом в стерильные 10R стеклянные флаконы Веттера.

Компоненты лекарственного состава и количественный состав лекарственного препарата на номинальное количество во флаконе (10 мл) представлены в Таблице 1 ниже (см. также B4 на Фиг. 6-77).

Таблица 1: Состав

Компонент	**Функция**	**Презентация 10R Стеклянного флакона**	**Номинальное количество [мг/флакон] V = 10,0 мл**
CHA.7.518.1.H4(S241P) мАт	Активный ингредиент	20 мг/мл в жидкой дозированной форме	200
25 мМ гистидина	Компонент буфера - Стабилизация pH	25 мМ в жидком составе	39
60 мМ NaCl	Компонент буфера - Контроль ионной силы	60 мМ в жидком составе	35
100 мМ L-аргинина	Эксципиент состава - Стабилизатор	100 мМ в жидком составе	174
Полисорбат 80	Эксципиент состава поверхностно-активное вещество	0,01% мас./об. в жидком составе	1

Достаточный объем помещен во флаконы в зависимости от веса нетто, чтобы обеспечить извлекаемый объем 10 мл.

ПРИМЕР 3: ФАЗА 1 ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ОЦЕНКЕ АНТИ-PVRIG АНТИТЕЛ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАПУЩЕННЫМИ СОЛИДНЫМИ ОПУХОЛЯМИ.

Область техники:

Существует большая неудовлетворенная медицинская потребность в лечении (tx - treatment) пациентов (pt - patient), у которых наблюдается резистентность или рецидив после лечения ингибиторами контрольных точек. Срочно необходимы новые методы воздействия на контрольные точки с новыми механизмами действия, которые могут активировать Т-клетки и демонстрировать противоопухолевую активность в этой популяции пациентов до лечения. CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13) представляет собой новое первое в своем классе гуманизированное моноклональное антитело IgG4, которое с высокой аффинностью связывается с PVRIG (белок, связанный с рецептором полиовируса, содержащий домен иммуноглобулина), блокируя его взаимодействие с его лигандом, PVRL2. И PVRIG, и PVRL2 являются частью оси DNAM, как и TIGIT и PD1. Ингибирование PVRIG приводит к усиленной активации Т- и NK-клеток, а PVRIG приводит к ингибированию роста опухоли в моделях опухолей у мышей. Авторы предполагают, что CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13) будет демонстрировать противоопухолевую активность у пациентов, которым предварительно вводили ингибитор контрольной точки.

Методы:

В этом примере описывается продолжающееся открытое исследование фазы 1 на людях у пациентов с запущенными солидными опухолями. В начальной части этого исследования (группа А) будут оцениваться возрастающие дозы CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13) в/в монотерапия Q3 еженедельно с отдельными когортами пациентов для начальной схемы 4, а затем 3+3. Ключевые критерии включения: возраст ≥18 лет, гистологически подтвержденная местно-распространенная/метастатическая солидная злокачественная опухоль, исчерпание доступной стандартной терапии, ECOG 0-1, предварительно анти-PD-1, анти-PD-L1, анти-CTLA-4, OX-40, CD137 допустимо.

Ключевые критерии исключения: активное аутоиммунное заболевание, требующее системной терапии в течение последних 2 лет, симптоматическое интерстициальное или воспалительное заболевание легких, непереносимость или симптоматическое метастазирование в центральную нервную систему. Основными целями являются безопасность и переносимость CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13), измеренные по частоте побочных явлений (ПЯ) и ограничивающей дозу токсичности (21-дневное окно DLT), фармакокинетика CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13), а

также определение максимально переносимой дозы и/или рекомендуемой дозы для увеличения. Вторичные цели заключаются в том, чтобы охарактеризовать иммуногенность и предварительную противоопухолевую активность CHA.7.518.1.H4(S241P) (тяжелая цепь: SEQ ID NO: 8; легкая цепь: SEQ ID NO: 13).

Статистические соображения: ПЯ оценивались согласно CTCAE v4.03, ответы согласно RECIST v1.1. Анализ всех целей исследования будет носить описательный характер и генерировать гипотезы. Не наблюдалось DLT в когортах с одним пациентом. Оценка пациентов, зачисленных в когорту 5, продолжается на момент подачи этой заявки.

ПРИМЕР 4: ФАЗА 1 ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ОЦЕНКЕ МОНОТЕРАПИИ АНТИ-PRIG И В КОМБИНАЦИИ С НИВОЛУМАБОМ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАПУЩЕННЫМИ СОЛИДНЫМИ ОПУХОЛЯМИ

Область техники:

CHA.7.518.1.H4(S241P) является новым первым в своем классе ингибитором контрольной точки белка, связанного с рецептором полиовируса, содержащего домен иммуноглобулина (PVRIG). Он ингибирует связывание PVRIG с его лигандом PVRL2. Ниволумаб, анти-PD-1, одобрен для пациентов с прогрессирующими злокачественными новообразованиями (вкладыш в упаковку Ниволумаба. http://packageinserts.bms.com/pi/pi_opdivo.pdf. Доступно 22.07.2019). Было продемонстрировано, что сигнальная ось DNAM, состоящая из PVRL2, TIGIT и DNAM, играет роль в регуляции активности T/NK-клеток. Ингибиторы PD-1 также играют важную роль в этой оси, модулируя активацию DNAM. В доклинических экспериментах было продемонстрировано, что блокирование PVRIG отдельно и в сочетании с ингибированием PD-1 приводит к активации Т-клеток в микроокружении опухоли, тем самым вызывая противоопухолевый иммунный ответ и ингибирование роста опухоли. Существует большая неудовлетворенная медицинская потребность в новых ингибиторах иммунных контрольных точек (ICI - immune checkpoint inhibitor) в качестве монотерапии у пациентов с рецидивом после лечения одобренными ICI, а также в сочетании с одобренными ICI для усиления клинического ответа. Не будучи связанным теорией, предполагается, что CHA.7.518.1.H4(S241P) будет безопасным и переносимым и продемонстрирует предварительную противоопухолевую активность в качестве монотерапии и в комбинации с ниволумабом у пациентов с R/R солидными опухолями. Ранее сообщалось, что никакие DLT не отмечались вплоть до уровня дозы 6 при монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) (Исследование фазы I по оценке CHA.7.518.1.H4(S241P) у пациентов с запущенными солидными опухолями. J Clin Oncol 37, 2019 (дополнение; абзац TPS2657)).

Методы:

Продолжающееся исследование с повышением дозы P1 с отдельными когортами пациентов и дизайном исследования 3+3 CHA.7.518.1.H4(S241P) в качестве в/в монотерапии каждые 3 недели и в комбинации с ниволумабом 360 мг в/в Q3 недели. Ключевые критерии включения: возраст ≥18 лет, гистологически подтвержденная прогрессирующая солидная опухоль и исчерпание всей доступной стандартной терапии, ECOG 0-1, предшествующие анти-PD-1, анти-PD-L1, анти-CTLA-4, OX-40, CD137 допустимы. Ключевые критерии исключения: Активное аутоиммунное заболевание, требующее системной терапии в течение последних 2 лет, симптоматическое интерстициальное или воспалительное заболевание легких, непереносимость или симптоматическое метастазирование в ЦНС. Основные цели: безопасность и переносимость CHA.7.518.1.H4(S241P) монотерапии и в комбинации с ниволумабом, измеряемой по частоте ПЯ и DLT (21-дневное окно), фармакокинетика CHA.7.518.1.H4(S241P), а также определение максимально переносимой дозы и/или рекомендуемой дозы для увеличения в качестве монотерапии/в комбинации с ниволумабом. Второстепенные цели: охарактеризовать иммуногенность и предварительную противоопухолевую активность CHA.7.518.1.H4(S241P) в комбинации с ниволумабом. Статистические соображения: ПЯ согласно CTCAE v4.03, ответы согласно RECIST v1.1. Анализ целей исследования носит описательный характер и позволяет генерировать гипотезы.

Результаты:

На эту дату представления не наблюдались DLT вплоть до уровня дозы 7 CHA.7.518.1.H4(S241P) монотерапия и уровень дозы 1 CHA.7.518.1.H4(S241P) в комбинации с ниволумабом.

Заключение:

Оценка безопасности и переносимости продолжается для всех пациентов. Обновленные результаты будут анализироваться на протяжении всего клинического испытания.

ПРИМЕР 5: ФАЗА 1 ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ, ПЕРЕНОСИМОСТИ И ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ МОНОТЕРАПИИ CHA.7.518.1.H4(S241P) У ПАЦИЕНТОВ С ЗАПУЩЕННЫМИ СОЛИДНЫМИ ОПУХОЛЯМИ

Область техники:

CHA.7.518.1.H4(S241P) является новым первым в своем классе ингибитором иммунной контрольной точки (ICI) белка, связанного с рецептором полиовируса,

содержащего домен иммуноглобулина (PVRIG) [1]. Он ингибирует связывание PVRIG с его лигандом PVRL2. PVRIG является членом сигнальной оси DNAM/TIGIT, регулирующей активность T/NK-клеток. В доклинических экспериментах мы показали, что ингибирование PVRIG отдельно и в сочетании с блокаторами анти-PD-1 и/или TIGIT приводит к активации Т-клеток в микроокружении опухоли, вызывая противоопухолевый иммунный ответ и ингибирование роста опухоли [1]. Хотя ICI произвели революцию в лечении рака, существует острая необходимость в разработке методов лечения пациентов с рефрактерностью или рецидивом после лечения ICI. Исследование было разработано, чтобы продемонстрировать, что CHA.7.518.1.H4(S241P) является безопасным, переносимым и демонстрирует предварительную противоопухолевую активность.

Методы:

Фаза 1a, повышение дозы монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) с применением гибридного ускоренного и 3+3 дизайна исследований была проведена для определения безопасности, переносимости, оценки фармакокинетики (ФК), фармакодинамики, для определения рекомендуемой дозы фазы 2 и оценки предварительной противоопухолевой активности CHA.7.518.1.H4(S241P). Пациенты с функциональным статусом ECOG 0-1 и прогрессирующими солидными опухолями, которым не удалось получить стандартное лечение, имели право на включение. Предыдущие ICI были разрешены. CHA.7.518.1.H4(S241P) 0,01, 0,03, 0,1, 0,3, 1, 3 и 10 мг/кг в/в каждые 3 недели вводили до прогрессирования, непереносимой токсичности или по усмотрению исследователя или пациента. О побочных явлениях сообщали в соответствии с CTCAE v4.03, а противоопухолевую активность оценивали с помощью RECIST v1.1. Дозолимитирующую токсичность (DLT - dose-limiting toxicitie) оценивали в пределах 21-дневного окна.

Результаты:

В общей сложности 13 пациентов были включены в исследование и получали лечение во время повышения дозы CHA.7.518.1.H4(S241P), в том числе 6 пациентов с метастатическим колоректальным раком (CRC), 5 с микросателлитным стабильным статусом (MSS) и 1 неизвестным. Пациенты получали интенсивное предварительное лечение в среднем из 7 предшествующих противоопухолевых терапий (диапазон 2-15). О DLT не сообщалось до уровня дозы CHA.7.518.1.H4(S241P) 10 мг/кг. Наиболее частыми проявлениями токсичности были утомляемость (8%), боль в животе (6%). Вероятные побочные явления, связанные с иммунитетом: повышение уровня ТТГ (TSH) и сыпь наблюдались у 2 пациентов. В целом 7/13 пациентов (54%) сохраняли наилучший ответ стабильного заболевания (SD) ≥12 недель (13,6 – 43 недели), в том числе 5/6 (83%) пациентов с CRC. Пять пациентов продолжают получать исследуемое лечение. Занятость

периферических рецепторов PVRIG (≥ 90%) была продемонстрирована при дозе ≥ 1 мг/кг CHA.7.518.1.H4(S241P), а фармакокинетический профиль поддерживает еженедельное Q3 дозирование в/в.

Заключение:

Монотерапия CHA.7.518.1.H4(S241P) продемонстрировала приемлемый профиль безопасности и переносимости с предварительной противоопухолевой активностью в популяции пациентов, ранее неоднократно получавших противораковую терапию.

Литература

1. Spencer L, Ofer L *et al*, Discovery of COM701, a therapeutic antibody targeting the novel immune checkpoint PVRIG, for the treatment of cancer. J Clin Oncol. 2017; (suppl; abstr 3074).

ПРИМЕР 6: ДАННЫЕ ПРОДОЛЖАЮЩЕЙСЯ ФАЗЫ 1 ИССЛЕДОВАНИЯ CHA.7.518.1.H4(S241P) У ПАЦИЕНТОВ С ЗАПУЩЕННЫМИ СОЛИДНЫМИ ОПУХОЛЯМИ

Антитело CHA.7.518.1.H4(S241P) хорошо переносилость, дозолимитирующей токсичности не наблюдалось.

Первоначальные сигналы противоопухолевой активности наблюдались у пациентов, получавших интенсивное предварительное лечение, в группе исследования с повышением дозы.

Предварительные результаты продолжающегося исследования фазы 1 повышения дозы CHA.7.518.1.H4(S241P), первого в своем классе анти-PVRIG антитела, у пациентов с солидными опухолями на поздних стадиях. Анттело CHA.7.518.1.H4(S241P) хорошо переносилось и не вызывало дозолимитирующей токсичности. Кроме того, CHA.7.518.1.H4(S241P) продемонстрировало начальные сигналы противоопухолевой активности в популяции пациентов, получавших интенсивное предварительное лечение, включенных в исследование.

Появляющийся профиль безопасности и первоначальная противоопухолевая активность CHA.7.518.1.H4(S241P) обнадеживают. Основная цель этой части исследования состояла в том, чтобы проверить безопасность и переносимость CHA.7.518.1.H4(S241P) в популяции всех желающих, а также ранние сигналы противоопухолевой активности у трудно поддающихся лечению пациентов, включая пациентов с микросателлитным стабильным колоректальным раком (MSS-CRC). Авторы ожидают начала управляемой биомаркерами монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) расширенной когорты пациентов с раком яичников, эндометрия, молочной железы и

легких. CHA.7.518.1.H4(S241P) может расширить спектр ингибиторов контрольных точек по этим показаниям, которые выбрали авторы на основе своего понимания биологического пути PVRIG.

Расширение доступности препаратов для иммунотерапии рака для более широких групп пациентов является настоятельной необходимостью, учитывая количество пациентов с распространенным раком, которые не реагируют или не поддаются лечению доступными в данное время методами лечения. Первоначальные сигналы противоопухолевой активности CHA.7.518.1.H4(S241P) обнадеживают, особенно учитывая обширную популяцию всех пациентов, получающих предварительное лечение, при этом большинство пациентов невосприимчивы к предыдущей терапии. Наблюдалась тенденция зависимости доза-реакция в этой трудно поддающейся лечению популяции пациентов, и, кроме того, обнадеживающий сигнал противоопухолевой активности у пяти из шести пациентов с колоректальным MSS, сложным показанием, как правило, не реагирующим на современные блокаторы иммунных контрольных точек.

Сообщаемые данные получены из группы монотерапии продолжающегося открытого исследования фазы 1 с повышением дозы и включают первые 6 когорт (n = 13) при уровнях доз 0,01, 0,03, 0,1, 0,3, 1, 3 и 10 мг/кг в/в каждые 3 недели.

Ключевые результаты:

CHA.7.518.1.H4(S241P) хорошо переносилось в дозе 10 мг/кг, при этом не наблюдалось дозолимитирующей токсичности.

Наилучший временной ответ стабильного заболевания (SD - stable disease)/уровень контроля заболевания отмечен у 9 из 13 пациентов (69%) с медианой семи предшествующих противоопухолевых терапий (диапазон 2 - 15).

Все пациенты с CRC (N=6) имели микросателлитный стабильный статус, 5/6 пациентов (83%) имели лучший временной ответ стабильного заболевания.

Фармакокинетический профиль поддерживает еженедельное Q3 в/в дозирование.

Занятость периферических рецепторов PVRIG, превышающая или равная 90%, была продемонстрирована при CHA.7.518.1.H4(S241P) ≥1 мг/кг.

Осталось 3 пациента, получающих исследуемое лечение монотерапией CHA.7.518.1.H4(S241P).

Включение в монотерапию CHA.7.518.1.H4(S241P) в дозе 20 мг/кг Q4 еженедельно продолжается.

Об исследовании фазы 1 CHA.7.518.1.H4(S241P)

Открытое клиническое исследование фазы 1 CHA.7.518.1.H4(S241P) было разработано для оценки безопасности и переносимости монотерапии

CHA.7.518.1.H4(S241P) в возрастающих дозах, а также комбинированного применения с Opdivo® компании Bristol-Myers Squibb у пациентов с запущенными солидными опухолями. Кроме того, вторичные конечные точки включают предварительную противоопухолевую активность, фармакокинетику и фармакодинамику монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P), а также CHA.7.518.1.H4(S241P) в комбинации с Опдиво у пациентов с отдельными типами опухолей, в том числе немелкоклеточного рака легкого, рака яичников, рака молочной железы и рака эндометрия. В исследование фазы 1, в котором, как ожидается, примут участие около 140 пациентов, в данное время проводится набор в Соединенных Штатах. Дополнительная информация доступна на сайте www.clinicaltrials.gov (NTC03667716).

ПРИМЕР 7: ФАЗА 1 ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ, ПЕРЕНОСИМОСТИ И ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ МОНОТЕРАПИИ CHA.7.518.1.H4(S241P) У ПАЦИЕНТОВ С ЗАПУЩЕННЫМИ СОЛИДНЫМИ ОПУХОЛЯМИ

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

CHA.7.518.1.H4(S241P) является новым первым в своем классе ингибитором иммунной контрольной точки (ICI) белка, связанного с рецептором полиовируса, содержащего домен иммуноглобулина (PVRIG), обнаруженным в рамках программы компьютерных открытий Compugen [1]. Он ингибирует связывание PVRIG с его лигандом PVRL2.

PVRIG является членом сигнальной оси DNAM/TIGIT, регулирующей активность ТМК-клеток.

В доклинических экспериментах авторы продемонстрировали, что ингибирование PVRIG приводит к активации Т-клеток в микроокружении опухоли, вызывая противоопухолевый иммунный ответ и ингибирование роста опухоли [2].

Существует острая необходимость в разработке методов лечения пациентов с рефрактерностью или рецидивом после лечения современными ICI.

Авторы предположили, что CHA.7.518.1.H4(S241P) будет безопасным и переносимым и продемонстрирует предварительную противоопухолевую активность в качестве монотерапии у пациентов с распространенными солидными опухолями.

ОСНОВНЫЕ КРИТЕРИИ СООТВЕТСТВИЯ

Включение

- Возраст ≥18 лет
- Гистологически или цитологически подтвержденное местно-распространенное или метастатическое солидное злокачественное новообразование,

исчерпавшее всю доступную стандартную терапию или не являющееся кандидатом на доступную стандартную терапию

- Статус производительности ECOG 0-1
- Допускается предварительный ингибитор контрольной точки иммунитета
- Адекватная гематологическая, печеночная и почечная функция

Исключение

- Симптоматическое интерстициальное заболевание легких или воспалительный пневмонит
- Нелеченные или симптоматические метастазы в центральной нервной системе
- Иммунозависимые явления в анамнезе, которые привели к прекращению лечения иммунотерапией

РЕЗУЛЬТАТЫ

В оцененных диапазонах доз CHA.7.518.1.H4(S241P) (0,01–10 мг/кг) не сообщалось о дозолимитирующей токсичности.

О прекращении лечения из-за побочных явлений не сообщалось.

Большинство TEAE были G1-2.

- Частыми TEAE были утомляемость (46%), тошнота (31%) и тревога (23%) — все G1-2; прогрессирование заболевания G5 (23%)
- Возможными побочными явлениями, связанными с иммунной системой, были сыпь (G1) и лабораторное обнаружение повышенного уровня ТТГ (G1).

Серьезные побочные явления были зарегистрированы у 5/13 пациентов.

- У 3 пациентов ПЯ (SAE) были связаны с прогрессированием заболевания.

Все пациенты имели IV стадию заболевания на момент включения в исследование и 8/13 (62%) имели лучший ответ PD на последнюю предыдущую терапию (т.е. рефрактерное заболевание) до включения в это исследование.

- Наилучший временной ответ SD у 5/8 пациентов (63%), у 1/5 пациентов с подтвержденным SD и у 2 пациентов продолжаются исследования.

Наилучший временной ответ SD/уровень контроля над заболеванием отмечен у 9/13 пациентов (69%).

Колоректальный рак был наиболее распространенным типом опухоли, зарегистрированным у 6/13 пациентов, все 6 пациентов имели микросателлитный стабильный статус (MSS-CRC).

- Уровень контроля заболевания (SD) у 5/6 пациентов (83%) с CRC
- Подтвержденное SD (неделя 12) у 4/6 пациентов (67%) с CRC

- Исторические данные 11% DCR и лучший временной ответ SD на 12 неделе с пембролизумабом у пациентов с MSS-CRC [3]

Все 3 включенных пациента с мутацией CRC-kras имели лучший временной ответ SD; 2/3 с подтвержденным SD

CHA.7.518.1.H4(S241P) экспозиционная доза пропорциональна повторному дозированию

Заполняемость периферического рецептора CHA.7.518.1.H4(S241P) мг/кг в/в Q3 недели

ВЫВОДЫ

CHA.7.518.1.H4(S241P) хорошо переносится в виде монотерапии.

Показатель контроля заболевания — 9/13 баллов (69%).

Сигнал противоопухолевой активности у трудно поддающихся лечению MSS-CRC и пациентов с CRC с мутацией KRAS

- Подтвержденное SD у 4/6 пациентов (67%) - MSS-CRC
- Подтвержденное SD у 2/3 пациентов с мутацией CRC-kras

Сигнал противоопухолевого ответа у:

- пациентов с ранее леченным рефрактерным заболеванием
- пациентов, ранее получавших ICI

Тенденция зависимости доза-реакция

CHA.7.518.1.H4(S241P) экспозиция пропорциональна дозе, позволяющая вводить дозу в/в Q3 недели

Заполняемость периферических рецепторов при 90% с мг/кг CHA.7.518.1.H4(S241P) в/в Q3 недель

2 пациента продолжают прием исследуемого препарата

Включение в исследование продолжается в группах A (монотерапия CHA.7.518.1.H4(S241P)) и B (CHA.7.518.1.H4(S241P) в комбинации с ниволумабом)

Исследование NCT03667716 проводится в сотрудничестве с Bristol-Myers Squibb.

Литература

1. Whelan S, Ophir E, *et al. PVRIG and PVRL2 Are Induced in Cancer and Inhibit CD8+ T-cell Function*. Cancer Immunol Res. 2019 Feb;7(2):257-268.

2. Murter B, Pan X, *et al.* Mouse PVRIG Has CD8+ T Cell-Specific Contributory Functions and Dampens Antitumor Immunity. Cancer Immunol Res. 2019 Feb;7(2):244-256.

3. Le DT, Uram JN, Wang H, *et al.* N Engl J Med. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency.2015 Jun 25;372(26):2509-20.

ПРИМЕР 8: ФАЗА 1 ИССЛЕДОВАНИЯ CHA.7.518.1.H4(S241P) МОНОТЕРАПИИ И В КОМБИНАЦИИ С НИВОЛУМАБОМ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАПУЩЕННЫМИ СОЛИДНЫМИ ОПУХОЛЯМИ.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

CHA.7.518.1.H4(S241P) представляет собой новое первое в своем классе гуманизированное моноклональное антитело IgG4, которое с высокой аффинностью связывается с белком, связанным с рецептором полиовируса, содержащим домен иммуноглобуоина (PVRIG), блокируя его взаимодействие с его лигандом, PVRL2 [1]

Ниволумаб представляет собой антитело к PD-1, одобренное для лечения пациентов с несколькими злокачественными новообразованиями [2].

Ингибиторы PD-1 играют важную роль в этой оси, модулируя активацию DNAM [3].

В доклинических экспериментах авторы продемонстрировали, что ингибирование PVRIG отдельно и в сочетании с анти-PD-1 приводит к активации Т-клеток в микроокружении опухоли, вызывая противоопухолевый иммунный ответ и ингибирование роста опухоли [1].

Несмотря на то, что ICI произвел революцию в лечении рака, существует острая необходимость в разработке методов лечения пациентов с рефрактерностью или рецидивом после лечения ICI.

Авторы предполагают, что CHA.7.518.1.H4(S241P) будет безопасным и переносимым и продемонстрирует противоопухолевую активность у пациентов с R/R солидными опухолями.

СПОСОБЫ

NCT03667716 — это продолжающееся открытое исследование фазы 1 на людях у пациентов с R/R солидными опухолями.

Авторы сообщают о начальной части этого исследования, оценивающей безопасность и переносимость возрастающих доз монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) в/в Q3 недели и в комбинации с ниволумабом 360 мг в/в Q3 недели.

ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЕЗУЛЬТАТА

Оценить профиль безопасности CHA.7.518.1.H4(S241P) в качестве монотерапии и в комбинации с ниволумабом у пациентов с солидными опухолями поздних стадий.

Частота побочных явлений и дозо-ограничивающая токсичность (21-дневное окно DLT), классифицированная в соответствии с CTCAE v4.03.

Для определения максимально переносимой дозы и/или рекомендуемой дозы для

увеличения дозы

Охарактеризовать ФК профиль CHA.7.518.1.H4(S241P) в качестве монотерапии и в комбинации с ниволумабом.

ВТОРИЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЕЗУЛЬТАТОВ

Охарактеризовать иммуногенность CHA.7.518.1.H4(S241P) отдельно и в комбинации с ниволумабом

Оценить предварительную противоопухолевую активность CHA.7.518.1.H4(S241P) в сочетании с ответами на ниволумаб (только фаза 1b) в соответствии с RECIST v1.1.

ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оценить предварительную противоопухолевую активность CHA.7.518.1.H4(S241P) в качестве монотерапии.

Чтобы оценить любую связь членов оси DNAM с клиническим исходом

Изучить доказательства CHA.7.518.1.H4(S241P)-опосредованного PD эффекта в крови в качестве монотерапии, а также в комбинации с ниволумабом.

ОСНОВНЫЕ КРИТЕРИИ ВКЛЮЧЕНИЯ

Возраст ≥18 лет

Гистологически или цитологически подтвержденное местно-распространенное или метастатическое солидное злокачественное новообразование, исчерпавшее всю доступную стандартную терапию или не являющееся кандидатом на доступную стандартную терапию

Статус производительности ECOG 0-1

Допускаются анти-PD-1, анти-PD-L1, анти-CTLA-4, OX-40, CD137.

Адекватная гематологическая, печеночная и почечная функция

ОСНОВНЫЕ КРИТЕРИИ ИСКЛЮЧЕНИЯ

Активное аутоиммунное заболевание, требующее системной терапии в течение последних 2 лет до первой дозы CHA.7.518.1.H4(S241P)

Симптоматическое интерстициальное заболевание легких или воспалительный пневмонит

Нелеченные или симптоматические метастазы в центральной нервной системе

Иммунозависимые явления в анамнезе, которые привели к прекращению лечения иммунотерапией.

ВВОДНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Дозолимитирующая токсичность не наблюдалась при 7-мом уровне дозы монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) и более ранних уровнях дозы (красная рамка).

Дозолимитирующая токсичность не наблюдалась при 3-м уровне дозы

CHA.7.518.1.H4(S241P) + ниволумаб и более ранних уровнях дозы (зеленая рамка).

На дату этой презентации 8-я монодоза CHA.7.518.1.H4(S241P) и 4-я доза CHA.7.518.1.H4(S241P) + ниволумаб открыты для включения во в/в график Q4 недель.

Исследование NCT03667716 проводится в сотрудничестве с Bristol-Myers Squibb.

ССЫЛКА

Spencer L, Ofer L et al, Discovery of COM701, a therapeutic antibody targeting the novel immune checkpoint PVRIG, for the treatment of cancer. J Clin Oncol. 2017; (suppl; abstr 3074).

Вкладыш в упаковку ниволумаба. http://packageinserts.bms.com/pi/pi_opdivo.pdf. Доступно 22.07.2019.

Wang B, Zhang W et al., Combination cancer immunotherapy targeting PD-1 and GITR can rescue CD8+ T cell dysfunction and maintain memory phenotype. Sci. Immunol. 2018; Nov 2:3(29).

ПРИМЕР 9: CHA.7.518.1.H4(S241P) ДЕМОНСТРИРУЕТ ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ АКТИВНОСТЬ В ВИДЕ МОНОТЕРАПИИ И В КОМБИНАЦИИ С НИВОЛУМАБОМ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАПУЩЕННЫМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

ВВЕДЕНИЕ:

CHA.7.518.1.H4(S241P) представляет собой новый первый в своем классе ингибитор иммунной контрольной точки (ICI), который с высокой аффинностью связывается с белком, связанным с рецептором полиовируса, содержащим домен иммуноглобулина (PVRIG), блокируя его взаимодействие со своим лигандом, PVRL2, и регулируя активность T/NK-клеток через ось DNAM/TIGIT. В доклинических экспериментах ингибирование PVRIG отдельно и в сочетании с анти-PD1 и/или TIGIT приводит к ингибированию роста опухоли и активации Т-клеток в микроокружении, генерирующих противоопухолевый ответ.

Методы:

Всего было включено 28 пациентов (группа A/B 16/12) с различными типами рака (включая пациентов с различными типами опухолей, у которых все доступные стандартные методы лечения оказались неэффективными). 16 пациентов в группе A (повышение дозы монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P)) и 12 пациентов в группе B (повышение дозы CHA.7.518.1.H4(S241P) с ниволумабом). Гибридный ускоренный дизайн (1-я когорта с 4 дозами в группе A) и дизайн исследования 3+3 (когорты 5-8 в группе A и все когорты в группе B). Пациенты с функциональным статусом ECOG 0-1 и

прогрессирующими или метастатическими солидными опухолями, которым не помогло стандартное лечение, имели право на участие. Предыдущие ICI были разрешены. В группе A пациенты получали монотерапию CHA.7.518.1.H4(S241P) 0,01, 0,03, 0,1, 0,3, 1, 3, 10 мг/кг (все в/в Q3 недели (нед.)) и 20 мг/кг (в/в Q4 недели). В группе B пациенты получали CHA.7.518.1.H4(S241P) в дозе 0,3, 1 или 3 мг/кг плюс ниволумаб 360 мг в/в q3 недели (3 пациента/доза когорты) и 3 пациента получали 10 мг/кг плюс ниволумаб 480 мг в/в q4 недели. Побочные явления, возникающие при лечении (TEAE), были зарегистрированы в соответствии с CTCAE v4.03, а ответы - в соответствии с RECIST v1.1. Дозолимитирующую токсичность (DLT) оценивали в пределах 21-дневного или 28-дневного окна (для 3- или 4-недельного режима дозирования соответственно). Дата окончания сбора данных: 23 января 2020 г.

Результаты:

Среднее количество предшествующих противоопухолевых терапий было: группа A, 7 (диапазон 2-15), группа B, 5 (диапазон 2-9). Ни в одной из когорт доз не сообщалось о DLT. Лечение хорошо переносилось, ни один субъект не прекратил лечение из-за токсичности, наиболее частыми TEAE в группе A были утомляемость (46%), тошнота (31%) и тревожность (23%) — все G1-2. В группе B ≥4 пациента - анемия, отеки нижних конечностей, сыпь и утомляемость в большинстве случаев относятся к 1-2 степени (88%). В группах A+B: частичный ответ (PR) + стабильное заболевание (SD) составил 57% (16/28). Следует отметить: Группа A (CHA.7.518.1.H4(S241P) 20 мг/кг в/в q4 недели): подтвержденный PR у пациента с первичным раком брюшины, продолжающимся при лечении > 15 недель. Группа B: неподтвержденный PR у пациента с MSS-CRC на CHA.7.518.1.H4(S241P) 0,3 мг/кг плюс ниволумаб. Подтвержденный частичный ответ у пациента с микросателлитным стабильным первичным раком брюшины, включенного в когорту с восьмой и последней дозой в группе A; пациент продолжает получать исследуемое лечение (более 15 недель).

360 в/в q3 недели, продолжающееся лечение >34 недель.

361 В целом 11/28 пациентов продолжают получать исследуемое лечение, включая 3 пациентов, которые не прошли первую визуализирующую оценку. Для обеих групп лечения временной ответ частичного ответа и стабильная частота заболевания/контроля заболевания были зарегистрированы у 16 из 28 пациентов (57%).

Заключение:

CHA.7.518.1.H4(S241P) хорошо переносится как в качестве монотерапии, так и в комбинации с ниволумабом у различных пациентов, ранее получавших интенсивное лечение, с распространенными или метастатическими солидными опухолями.

CHA.7.518.1.H4(S241P) демонстрирует обнадеживающую предварительную противоопухолевую активность с объективными ответами в виде монотерапии и в комбинации с ниволумабом при трудноизлечимых типах опухолей (первичный перитонеальный, микросателлитно-стабильный первичный перитонеальный рак (MSS первичный перитонеальный рак или MSS-PPC), и микросателлитный стабильный колоректальный рак (MSS-CRC)).

ПРИМЕР 10: CHA.7.518.1.H4(S241P) ПРОЯВЛЯЕТ ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ АКТИВНОСТЬ В КАЧЕСТВЕ МОНОТЕРАПИИ И В КОМБИНАЦИИ С НИВОЛУМАБОМ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАПУЩЕННЫМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ.

ВВЕДЕНИЕ:

Существует большая неудовлетворенная медицинская потребность в лечении пациентов с рефрактерностью или рецидивом после лечения ингибиторами контрольных точек.

Ингибирование белка, связанного с рецептором полиовируса, содержащего домен иммуноглобулина (PVRIG), приводит к усиленной активации Т- и NK-клеток и приводит к ингибированию роста опухоли на моделях опухолей у мышей (Spencer L, Ofer L et al, Discovery of COM701, a therapeutic antibody targeting the novel. immune checkpoint PVRIG, for the treatment of cancer. J Clin Oncol. 2017; (suppl; abstr 3074).

CHA.7.518.1.H4(S241P) представляет собой новое первое в своем классе гуманизированное моноклональное антитело IgG4, которое с высокой аффинностью связывается с PVRIG, блокируя его взаимодействие со своим лигандом, PVRL2.

Предыдущие данные подтверждают предварительную противоопухолевую активность монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) (Dumbrava E, Fleming G, Hamilton E et al. Journal for ImmunoTherapy of Cancer 2019, 7(Suppl 1):P421. SITC Nov 2019.)

В настоящих данных представлены данные, относящиеся к предварительной безопасности и противоопухолевой активности CHA.7.518.1.H4(S241P) в комбинации с ниволумабом (Группа B), и мы предоставляем обновленные данные в когортах монотерапевтической дозы CHA.7.518.1.H4(S241P) (Группа A).

CHA.7.518.1.H4(S241P) хорошо переносится и с управляемым профилем безопасности в качестве монотерапии и в комбинации с ниволумабом:

Нет повышения токсичности в комбинации с ниволумабом.

Ни один из субъектов не прекратил прием исследуемого препарата из-за токсичности какого-либо исследуемого препарата.

Моноагент MTD CHA.7.518.1.H4(S241P) 20 мг/кг в/в Q4 недели; комбинированное

увеличение дозы продолжается.

Подтвержден частичный ответ у 2 пациентов.

CHA.7.518.1.H4(S241P) монотерапия 20 мг/кг в/в Q4 недели - первичный перитонеальный рак (продолжается лечение в течение 25 недель).

CHA.7.518.1.H4(S241P), (CHA.7.518.1.H4(S241P) 0,3 мг/кг в/в Q3 недели) + ниволумаб (480 мг в/в Q3 недели) - MSS-CRC (продолжается лечение в рамках исследования 44 недели).

Уровень контроля заболевания при монотерапии CHA.7.518.1.H4(S241P) составил 11/16 [69%] при различных типах опухолей.

Уровень контроля заболевания для CHA.7.518.1.H4(S241P) + ниволумаб составил 9/12 [75%] при различных типах опухолей.

Длительное стабильное заболевание (SD > 6 месяцев) у 6/28 пациентов и различные типы опухолей.

Группа A (монотерапия CHA.7.518.1.H4(S241P)): Адено-кистозный CA, CRC-MSS.

Группа B (CHA.7.518.1.H4(S241P) + ниволумаб): анальный SCC, CRC-MSS, эндометриальный, NSCLC (плоскоклеточный).

Предварительный ФК профиль CHA.7.518.1.H4(S241P) поддерживает дозирование Q4 недель.

CHA.7.518.1.H4(S241P) запланировано увеличение дозы монотерапии при RDFE (NSCLC, OVCA, молочной железы, эндометрия, MSS-CRC).

Все заголовки и обозначения разделов используются только для ясности и в справочных целях, и никоим образом не должны рассматриваться как ограничивающие. Например, специалисты в данной области техники оценят полезность комбинирования различных аспектов данного изобретения из разных заголовков и разделов, в зависимости от ситуации, в соответствии с сущностью и объемом изобретения, описанного в настоящей заявке.

Все источники, процитированные в настоящем описании, тем самым включены в описание посредством ссылки в полном объеме и для всех целей в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или патентная заявка была специально и индивидуально указана как включенная посредством ссылки в полном объеме и для всех целей.

Многие модификации и вариации данной заявки могут быть выполнены без отклонения от ее сущности и объема, как будет очевидно для специалистов в данной области техники. Конкретные варианты осуществления данного изобретения и примеры, раскрытые в настоящем описании, приведены исключительно в качестве примеров, и

настоящее изобретение ограничено исключительно текстом прилагаемой формулы изобретения наряду с полным объемом эквивалентов, на которые распространяется формула изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Стабильный жидкий фармацевтический состав анти-PVRIG антитела, содержащий:

(a) анти-PVRIG антитело, причем указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) от 10 мМ до 100 мМ гистидина;

(c) от 30 мМ до 100 мМ NaCl;

(d) от 20 мМ до 150 мМ L-аргинина; и

(e) от 0,005% до 0,1% масс./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 5,5 до 7,0.

2. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из п. 1, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело содержит последовательность CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 IgG4 (SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 50), при этом указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

3. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело содержит область CH1-шарнирный участок-CH2-CH3 из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, при этом указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

4. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что указанный вариабельный домен тяжелой цепи происходит из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), а указанный вариабельный домен легкой цепи происходит из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9).

5. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело содержит CL-участок легкой цепи каппа-2 человека.

6. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит от 10 мМ до 80 мМ гистидина, от 15 мМ до 70 мМ гистидина, от 20 мМ до 60 мМ гистидина, от 20 мМ до 50 мМ гистидина или от 20 мМ до 30 мМ гистидина.

7. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит около 25 мМ гистидина.

8. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-7, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит от 30 мМ до 100 мМ NaCl, от 30 мМ до 90 мМ NaCl, от 40 мМ до 80 мМ NaCl, от 30 мМ до 70 мМ гистидина или от 45 мМ до 70 мМ NaCl.

9. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит около 60 мМ NaCl.

10. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит от 20 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 30 мМ до 140 мМ L-аргинина, от 40 мМ до 130 мМ L-аргинина, от 50 мМ до 120 мМ L-аргинина, от 60 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 70 мМ до 110 мМ L-аргинина, от 80 мМ до 110 мМ L-аргинина или от 90 мМ до 110 мМ L-аргинина.

11. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-10, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит около 100 мМ L-аргинина.

12. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-11, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит от 0,006% до 0,1% масс./об. полисорбата 80, от 0,007% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,008% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,009% до 0,09% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,08% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80, от 0,01% до 0,07% масс./об. полисорбата 80, или от 0,01% до 0,06% масс./об. полисорбата 80, или от 0,009% до 0,05% масс./об. полисорбата 80.

13. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что указанный фармацевтический состав содержит около 0,01% полисорбата 80.

14. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-13, отличающийся тем, что его pH составляет от 6 до 7,0.

15. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-14, отличающийся тем, что его pH составляет от 6,3 до 6,8.

16. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-15, отличающийся тем, что его pH составляет 6,5 +/- 0,2.

17. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-16, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело находится в концентрации от 10 мг/мл до 40 мг/мл, от 15 мг/мл до 40 мг/мл, 15 мг/мл до 30 мг/мл, от 10 мг/мл до 25 мг/мл или от 15 мг/мл до 25 мг/мл.

18. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-17,

отличающийся тем, что указанный состав стабилен при температуре от 2 °C до 8 °C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель или 10 недель.

19. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-18, отличающийся тем, что указанный состав стабилен при температуре от около 20 °C до 25 °C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель или 6 недель.

20. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-19, отличающийся тем, что указанный состав стабилен при температуре от 35 °C до 40 °C в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель или 5 недель.

21. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-20, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело находится в концентрации около 20 мг/мл.

22. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-21, отличающийся тем, что указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

a) тяжелую цепь, содержащую:

i) VH-CH1-шарнирный участок-CH2-CH3, при этом VH получен из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и при этом участок CH1-шарнир-CH2-CH3 получен из IgG4; и

b) легкую цепь, содержащую:

i) VL-CL, при этом VL получен изCHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9), и при этом CL-участок получен из легкой цепи каппа-2 человека.

23. Стабильный жидкий фармацевтический состав по п. 24, отличающийся тем, что указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

24. Стабильный жидкий фармацевтический состав по п. 23, отличающийся тем, что указанный шарнирный участок необязательно содержит мутации.

25. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-24, отличающийся тем, что указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13).

26. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-25, отличающийся тем, что указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, причем указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из тяжелой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 4), и

ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 из легкой цепи CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 9);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

27. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-26, отличающийся тем, что указанный состав анти-PVRIG антитела содержит:

(a) анти-PVRIG антитело, причем указанное анти-PVRIG антитело содержит:

i) тяжелую цепь, представляющую собой тяжелую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 8); и

ii) легкую цепь, представляющую собой легкую цепь из CHA.7.518.1.H4(S241P) (SEQ ID NO: 13);

(b) около 25 мМ гистидина;

(c) около 60 мМ NaCl;

(d) около 100 мМ L-аргинина; и

(e) около 0,01% мас./об. полисорбата 80,

при этом композиция имеет pH от 6,5 +/- 0,2.

28. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-27, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело вводят в дозе от около 0,01 мг/кг до около 20 мг/кг анти-PVRIG антитела или около 0,01 мг/кг до около 10 мг/кг анти-PVRIG антитела.

29. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-27, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело вводят в дозе около 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг или 20 мг/кг анти-PVRIG антитела.

30. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-29, отличающийся тем, что указанное анти-PVRIG антитело вводят в дозе 20 мг/кг каждые 4 недели.

31. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-30, отличающийся тем, что указанный стабильный жидкий фармацевтический состав вводят

для лечения рака.

32. Стабильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп. 1-31 для применения в способе лечения рака.

33. Стабильный жидкий фармацевтический состав по п. 31 или п. 32, отличающийся тем, что указанный рак выбран из группы, состоящей из рака предстательной железы, рака печени (HCC), колоректального рака (CRC - colorectal cancer), колоректального рака MSS (MSS-CRC; включая рефрактерный колоректальный MSS), CRC (MSS неизвестный), рака яичников (включая карциному яичников), рака эндометрия (включая карциному эндометрия), рака молочной железы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака щитовидной железы, рака яичек, рака уротелия, рака легких, меланомы, немеланомного рака кожи (плоскоклеточный и базально-клеточный рак), глиомы, почечно-клеточного рака (RCC - renal cell cancer), почечно-клеточной карциномы (RCC), лимфомы (неходжкинская лимфома (NHL - non-Hodgkins' lymphoma) и лимфомы Ходжкина (HD - Hodgkin's lymphoma)), острого миелоидного лейкоза (AML - Acute myeloid leukemia), T-клеточного острого лимфобластного лейкоза (T-ALL), диффузной крупноклеточной B-клеточной лимфомы, опухоли зародышевых клеток яичка, мезотелиомы, рака пищевода, тройного негативного рака молочной железы, рака из клеток Меркеля, MSI-высокого рака, мутантных опухолей KRAS, T-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, мезотелиомы плевры, анального SCC, нейроэндокринного рака легкого (включая нейроэндокринную карциному легкого), NSCLC, NSCL (крупноклеточный), крупноклеточного NSCLC, плоскоклеточного NSCLC, SCC шейки матки, злокачественной меланомы, рака поджелудочной железы, аденокарциномы поджелудочной железы, адено-кистозного рака (включая адено-кистозную карциному), первичного рака брюшины, стабильного микросателлитного первичного рака брюшины, резистентного к платине микросателлитного стабильного первичного рака брюшины и/или миелодиспластических синдромов (MDS).

СОСТАВЫ АНТИ-PVRIG АНТИТЕЛ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

Фиг. 1

Трансмембранный белок PVRIG [Homo sapiens]

Эталонная последовательность NCBI: NP 076975

1 mrteaqvpal qppepglega mghrtlvlpw vlltlcvtag tpevwvqvrm eatelssfti

61 rcgflgsgsi slvtvswggp ngaggttlav lhpergirqw aparqarwet qssislileg

121 sgasspcant tfcckfasfp egsweacgsl ppssdpglsa pptpapilra dlagilgvsg

181 vllfgcvyll hlrrhkhrp aprlqpsrts pqaprarawa psqasqaalh vpvatintsc

241 rpatldtahp hggpswwasl pthaahrpqg paawastpip argsfvsven glvaqagerp

301 phtgpgltlf pdprgprame gplgvr

(SEQ ID NO: 1)

Фиг. 2

Альфа-изоформа PVLR2 человека
> Gi | 5360210 | ref | NP_002847.1 | предшественник альфа-изоформы нектина-2 [Homo sapiens]
MARAAALLPSRSPPTPLLWPLLLLLLLETGAQDVRVQVLPEVRGQLGGTVELPCHLLPPVPGLYISLVTW
QRPDAPANHQNVAAFHPKMGPSFPSPKPGSERLSFVSAKQSTGQDTEAELQDATLALHGLTVEDEGNYTC
EFATFPKGSVRGMTWLRVIAKPKNQAEAQKVTFSQDPTTVALCISKEGRPPARISWLSSLDWEAKETQVS
GTLAGTVTVTSRFTLVPSGRADGVTVTCKVEHESFEEPALIPVTLSVRYPPEVSISGYDDNWYLGRTDAT
LSCDVRSNPEPTGYDWSTTSGTFPTSAVAQGSQLVIHAVDSLFNTTFVCTVTNAVGMGRAEQVIFVRETP
RASPRDVGPLVWGAVGGTLLVLLLLAGGSLAFILLRVRRRRKSPGGAGGGASGDGGFYDPKAQVLGNGDP
VFWTPVVPGPMEPDGKDEEEEEEEEKAEKGLMLPPPPALEDDMESQLDGSLISRRAVYV
(SEQ ID NO: 2)

Дельта-изоформа PVLR2 человека
>Gi | 112789532 | ref | NP_001036189.1 | предшественник дельта-изоформы нектина-2 [Homo sapiens]
MARAAALLPSRSPPTPLLWPLLLLLLLETGAQDVRVQVLPEVRGQLGGTVELPCHLLPPVPGLYISLVTW
QRPDAPANHQNVAAFHPKMGPSFPSPKPGSERLSFVSAKQSTGQDTEAELQDATLALHGLTVEDEGNYTC
EFATFPKGSVRGMTWLRVIAKPKNQAEAQKVTFSQDPTTVALCISKEGRPPARISWLSSLDWEAKETQVS
GTLAGTVTVTSRFTLVPSGRADGVTVTCKVEHESFEEPALIPVTLSVRYPPEVSISGYDDNWYLGRTDAT
LSCDVRSNPEPTGYDWSTTSGTFPTSAVAQGSQLVIHAVDSLFNTTFVCTVTNAVGMGRAEQVIFVRETP
NTAGAGATGGIIGGIIAAIIATAVAATGILICRQQRKEQTLQGAEEDEDLEGPPSYKPPTPKAKLEAQEM
PSQLFTLGASEHSPLKTPYFDAGASCTEQEMPRYHELPTLEERSGPLHPGATSLGSPIPVPPGPPAVEDV
SLDLEDEEGEEEEEYLDKINPIYDALSY
(SEQ ID NO: 3)

Фиг. 3

CHA.7.518.1.H4(S241P)

Что	Последовательность	SEQ ID NO:
Вариабельный тяжелый (vh) домен	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNINWVRQAPGQGLEWMGYIYPYIGGSGYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREDKTARNAMDYWGQGTLVTVSS	**4**
vhCDR1	GYTFTDYN	**5**
vhCDR2	IYPYIGGS	**6**
vhCDR3	AREDKTARNAMDY	**7**
Полная длина HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNINWVRQAPGQGLEWMGYIYPYIGGSGYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREDKTARNAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	**8**
Вариабельный легкий (vl) домен	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYEATNLAEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQHFWGTPYTFGQGTKLEIK	**9**
vlCDR1	ENIYSN	**10**
vlCDR2	EAT	**11**
vlCDR3	QHFWGTPYT	**12**
Легкая цепь полной длины	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYEATNLAEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQHFWGTPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	**13**

Фиг. 4

IgG1:

```
ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS      60
GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG     120
PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN     180
STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE     240
LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW     300
QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK                                      330
```

(SEQ ID NO:14)

IgG2:

```
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS      60
GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVER KCCVECPPCP APPVAGPSVF     120
LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTFR     180
VVSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVSNKGLPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN     240
QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPMLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN     300
VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK                                          326
```

(SEQ ID NO:15)

IgG3:

```
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS      60
GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVNHKPS NTKVDKRVEL KTPLGDTTHT CPRCPEPKSC     120
DTPPPCPRCP EPKSCDTPPP CPRCPEPKSC DTPPPCPRCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT     180
LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFKWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTF RVVSVLTVLH     240
QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK     300
GFYPSDIAVE WESSGQPENN YNTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NIFSCSVMHE     360
ALHNRFTQKS LSLSPGK                                                    377
```

(SEQ ID NO:16)

IgG4:

```
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS      60
GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPSCP APEFLGGPSV     120
FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY     180
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK     240
NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG     300
NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK                                         327
```

(SEQ ID NO:17)

IgG4 из SEQ ID NO:8

```
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS      60
GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV     120
FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY     180
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK     240
NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG     300
NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK                                         327
```

(SEQ ID NO:50)

Фиг. 5A

Из WO 2017/041004

Что	последовательность	SEQ ID NO:
Тяжелая цепь (SEQ ID NO:5 из WO 2017/041004)	EVQLQQSGAELVRSGASVKMSCKVNDYTFTNYNMHWLRQTPGQGLEWIGYIYPGNGDTNYNQKF KGKATLTADTSSSTAYMQIISLTSEDPAVYFCARQGIHYYYIDVWGAGTTVTVSSG	18
vhCDR1 (SEQ ID NO:6 из WO 2017/041004)	DYTFTNYNMH	19
vhCDR2 (SEQ ID NO:7 из WO 2017/041004)	YIYPGNGDTNYNQ	20
vhCDR3 (SEQ ID NO:8 из WO 2017/041004)	QGIHYYYIDV	21
Легкая цепь (SEQ ID NO:3 из WO 2017/041004)	DIEMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSIRDYLHWYQQKSHESPRLLIKYVSQSISGIPSRFSGSGSGSEF TLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSLPLTFGSGTKLEIKRTV	22
vlCDR1 (SEQ ID NO:9 из WO 2017/041004)	RASQSIRDYLH	23
vlCDR2 (SEQ ID NO:10 из WO 2017/041004)	YVSQSIS	24
vlCDR3 (SEQ ID NO:11 из WO 2017/041004)	QNGHSLPLT	25

Фиг. 5B

Из WO 2017/041004

Что	последовательность	SEQ ID NO:
Тяжелая цепь (SEQ ID NO:32 из WO 2017/041004)	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTSDWMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSTGYTEYNQKFK DKATLTADKSSSTAYMQLRSLTSEDSAVYYCARGSSGSWFAYWGQGTLVTVSA	26
vhCDR1 (SEQ ID NO:34 из WO 2017/041004)	SDWMH	27
vhCDR2 (SEQ ID NO:35 из WO 2017/041004)	YINPSTGYTEYNQKFKD	28
vhCDR3 (SEQ ID NO:36 из WO 2017/041004)	GSSGSWFAY	29
Легкая цепь (SEQ ID NO:33 из WO 2017/041004)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPARFSGS GSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIK	30
vlCDR1 (SEQ ID NO:37 из WO 2017/041004)	RASQSVSTSSYSYMH	31
vlCDR2 (SEQ ID NO:38 из WO 2017/041004)	YASNLES	32
vlCDR3 (SEQ ID NO:39 из WO 2017/041004)	QHSWEIPYT	33

Фиг. 5C

Из WO 2017/041004

Что	последовательность	SEQ ID NO:
Тяжелая цепь (SEQ ID NO:32 из WO 2017/041004)	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTSDWMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSTGYTEYNQKFK DKATLTADKSSSTAYMQLRSLTSEDSAVYYCARGSSGSWFAYWGQGTLVTVSA	34
vhCDR1 (SEQ ID NO:34 из WO 2017/041004)	SDWMH	35
vhCDR2 (SEQ ID NO:35 из WO 2017/041004)	YINPSTGYTEYNQKFKD	36
vhCDR3 (SEQ ID NO:36 из WO 2017/041004)	GSSGSWFAY	37
Легкая цепь (SEQ ID NO:40 из WO 2017/041004)	DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLNSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTG SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPRTFGGGTKLEIK	38
vlCDR1 (SEQ ID NO:41 из WO 2017/041004)	KSSQSLLNSDGKTYLN	39
vlCDR2 (SEQ ID NO:42 из WO 2017/041004)	LVSKLDS	40
vlCDR3 (SEQ ID NO:43 из WO 2017/041004)	WQGTHFPRT	41

Фиг. 5D

Из WO 2018/017864 (334M5 антитело)

Что	последовательность	SEQ ID NO:
Тяжелая цепь (SEQ ID NO:30 из WO 2018/017864)	EVQLQQSVAELVRPGTSVTISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIFPGGDYPNYNEKFKG KATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSSVYFCTRGYFDVWGAGTTVTVSS	42
vhCDR1 (SEQ ID NO:31 из WO 2018/017864)	TNYWLG	43
vhCDR2 (SEQ ID NO:32 из WO 2018/017864)	DIFPGGDYPNYNEKFKG	44
vhCDR3 (SEQ ID NO:33 из WO 2018/017864)	TRGYFDV	45
Легкая цепь (SEQ ID NO:25 из WO 2018/017864)	DIQMTQSPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSENQKNYLAWFQQKPGQPPKMLIYGASTR ESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDHSYPFTFGSGTKLEIKR	46
vlCDR1 (SEQ ID NO:26 из WO 2018/017864)	KSSQSLLNSENQKNYLA	47
vlCDR2 (SEQ ID NO:27 из WO 2018/017864)	GASTRES	48
vlCDR3 (SEQ ID NO:28 из WO 2018/017864)	QNDHSYP	49

Фиг. 6

ID	Буфер и pH	ID состава	Excipients				
			PS80	L-аргинин	NaCl	Трегалоза	Сахароза
A	25 мМ гистидина, pH 5,5	A1	0,01%				
		A2	0,01%	100 мМ			
		A3	0,01%		60 мМ		
		A4	0,01%	100 мМ	60 мМ		
		A5	0,01%	100 мМ		5%	
		A6	0,01%	100 мМ			5%
		A7	0,01%		60 мМ	5%	
		A8	0,01%		60 мМ		5%
		A9	0,01%	100 мМ	60 мМ	5%	
		A10	0,01%	100 мМ	60 мМ		5%
B	25 мМ гистидина, pH 6,5	B1	0,01%				
		B2	0,01%	100 мМ			
		B3	0,01%		60 мМ		
		B4	0,01%	100 мМ	60 мМ		
		B5	0,01%	100 мМ		5%	
		B6	0,01%	100 мМ			5%
		B7	0,01%		60 мМ	5%	
		B8	0,01%		60 мМ		5%
		B9	0,01%	100 мМ	60 мМ	5%	
		B10	0,01%	100 мМ	60 мМ		5%

Фиг. 7A

Состояние	Описание
Заморозить/разморозить	Три цикла заморозки до -60 °C и оттаивания до температуры окружающей среды
Перемешивание	Перемешивание при 200 об/мин в частично заполненных флаконах в течение не менее чем 24 часов при температуре окружающей среды
Хранение при температуре окружающей среды (25 °C)	Хранение при температуре окружающей среды (25 0C) в течение 4 недель, тестирование во временные точки 2 и 4 недели
Идеальное хранение	Хранение при 2-8 °C в течение 8 недель, тестирование в 2, 4 и 8 недельные временные точки
Хранение при повышенной температуре	Хранение при 40 °C в течение 2 недель, тестирование в 1 и 2 недельные временные точки

Фиг. 7B

Состояние	Анализ	T = 0	3 цикла		
Заморозить/ разморозить	Внешний вид	X	X		
	SEC-HPLC	X	X		
	Концентрация (A280 нм)	X	X		
	cIEF	X	X		
	LabChip (N и NR)	X	X		
	MFI	X	X		
	Анализ эффективности	X	X		
	Анализ		24 часа		
Перемешивание	Внешний вид		X		
	SEC-HPLC		X		
	Концентрация (A280 нм)		X		
	cIEF		X		
	LabChip (N и NR)		X		
	MFI		X		
	Анализ эффективности		X		
	Анализ		2 недели	4 недели	8 недель
2–8 °C	Внешний вид		X	X	X
	SEC-HPLC		X	X	X
	Концентрация (A280 нм)		X	X	X
	cIEF		X	X	X
	LabChip (N и NR)		X	X	X
	MFI		X	X	X
	Анализ эффективности		X	X	X
	Анализ		2 недели	4 недели	
Температура окружающей среды	Внешний вид		X	X	
	SEC-HPLC		X	X	
	Концентрация (A280 нм)		X	X	
	cIEF		X	X	
	LabChip (N и NR)		X	X	
	MFI		X	X	
	Анализ эффективности		X	X	
	Анализ		1 неделя	2 недели	
40 °C	Внешний вид		X	X	
	SEC-HPLC		X	X	
	Концентрация (A280 нм)		X	X	
	cIEF		X	X	
	LabChip (N и NR)		X	X	
	MFI		X	X	
	Анализ эффективности		X	X	

Фиг. 8

T = 0 Результаты внешнего вида:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
STM-QCS-0008	Внешний вид	A1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц

Фиг. 9

T = 0 A280 результаты:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (мг/мл)
12STM-QCS-0252	Определение концентрации белка с помощью SoloVPE	A1	20,8
		A2	21,1
		A3	24,8
		A4	22,9
		A5	23,6
		A6	22,8
		A7	23,4
		A8	24,3
		A9	22,5
		A10	23,8
		B1	23,3
		B2	23,3
		B3	20,4
		B4	24,4
		B5	21,8
		B6	22,9
		B7	23,3
		B8	22,8
		B9	23,3
		B10	21,5

Фиг. 10

T = 0 LabChip результаты:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат		
			% интактных (NR)	% легкой цепи (R)	% тяжелой цепи (R)
STM-PDA-0120	Определение чистоты IgG с помощью LabChip (невосстановленные и восстановленные)	A1	96,13	18,99	81,01
		A2	96,44	19,09	80,91
		A3	96,46	19,19	80,81
		A4	96,50	19,35	80,65
		A5	96,56	19,38	80,62
		A6	96,63	19,18	80,82
		A7	96,42	19,28	80,72
		A8	96,65	19,46	80,54
		A9	95,98	18,90	81,10
		A10	96,53	19,10	80,90
		B1	96,30	18,88	81,12
		B2	96,32	19,02	80,98
		B3	96,00	18,58	81,42
		B4	96,14	18,78	81,22
		B5	96,32	18,80	81,20
		B6	96,46	19,01	80,99
		B7	95,63	18,56	81,40
		B8	96,20	18,57	81,43
		B9	96,43	18,70	81,30
		B10	96,27	18,62	81,38

Фиг. 11

T = 0 SEC результаты:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			Общая площадь	Высокий MW (%)	Основной пик (%)	Низкий MW (%)
STM-QCS-0195	Эксклюзионная хроматография для определения агрегации белков	A1	163,512	1,04	98,96	0,00
		A2	160,167	1,02	98,98	0,00
		A3	134,343	1,05	98,95	0,00
		A4	146,812	1,04	98,97	0,00
		A5	142,974	1,04	98,97	0,00
		A6	148,852	1,03	98,97	0,00
		A7	144,319	1,04	98,96	0,00
		A8	139,027	1,04	98,96	0,00
		A9	150,079	1,05	98,95	0,00
		A10	141,918	1,04	98,97	0,00
		B1	142,167	1,08	98,92	0,00
		B2	151,293	1,04	98,96	0,00
		B3	165,254	1,08	98,93	0,00
		B4	139,796	1,05	98,96	0,00
		B5	155,280	1,03	98,97	0,00
		B6	145,941	1,03	98,97	0,00
		B7	144,923	1,05	98,96	0,00
		B8	148,498	1,04	98,96	0,00
		B9	145,177	1,04	98,97	0,00
		B10	157,078	1,04	98,97	0,00

Фиг. 12

cIEF результаты:

Номер анализа		STM-QCS-0151							
Анализ		Изоэлектрическая точка с применением визуализированного анализа cIEF							
Состав	Общая интегрированная площадь	Результат							
		pI / % площади	Второстепенные виды 1	Главные виды 1	Второстепенные виды 2	Главные виды 2	Второстепенные виды 3	Главные виды 3	Основной
A1	0,017	pI	7,05	7,24	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,86	43,88	2,41	28,61	1,97	18,41	0,88
A2	0,017	pI	7,05	7,24	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,77	43,98	2,31	28,45	2,04	18,47	1,00
A3	0,014	pI	7,05	7,24	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,95	43,76	2,27	28,81	1,94	18,65	0,77
A4	0,016	pI	7,05	7,24	7,34	7,44	7,49	7,62	
		% площади	4,07	43,77	2,29	28,22	2,05	18,50	1,09
A5	0,015	pI	7,05	7,24	7,34	7,43	7,49	7,62	
		% площади	4,01	43,97	2,18	28,81	1,76	18,40	0,88
A6	0,016	pI	7,05	7,24	7,34	7,43	7,49	7,62	
		% площади	3,94	44,11	2,16	28,22	1,90	18,40	0,79
A7	0,015	pI	7,05	7,24	7,33	7,44	7,49	7,63	
		% площади	3,98	43,66	2,43	28,05	2,12	18,72	1,06
A8	0,015	pI	7,05	7,24	7,33	7,43	7,49	7,62	
		% площади	3,96	43,85	2,52	28,16	1,91	18,62	0,99
A9	0,027	pI	7,04	7,24	7,32	7,42	7,47	7,60	
		% площади	4,10	44,08	2,23	27,92	2,64	18,33	0,71
A10	0,016	pI	7,05	7,24	7,32	7,36	7,43	7,62	
		% площади	3,87	43,93	2,27	28,87	1,76	18,45	0,86
B1	0,019	pI	7,04	7,23	7,32	7,41	7,46	7,60	
		% площади	3,98	44,66	2,43	27,80	2,09	18,26	0,80
B2	0,017	pI	7,05	7,24	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	3,90	43,65	2,34	28,21	2,66	18,47	0,80
B3	0,019	pI	7,05	7,24	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	4,13	43,82	2,37	28,19	2,21	18,29	1,00
B4	0,014	pI	7,05	7,24	7,33	7,43	7,49	7,62	
		% площади	3,64	43,70	2,24	28,80	1,91	18,70	1,02
B5	0,019	pI	7,04	7,24	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	3,93	44,63	2,13	28,14	1,00	18,23	0,58
B6	0,016	pI	7,05	7,24	7,34	7,43	7,49	7,62	
		% площади	3,71	44,17	2,11	28,70	2,09	18,42	0,83
B7	0,018	pI	7,05	7,24	7,33	7,42	7,48	7,61	
		% площади	4,12	43,68	2,60	28,49	1,95	18,29	0,88
B8	0,017	pI	7,05	7,24	7,33	7,43	7,48	7,61	
		% площади	4,03	44,18	2,49	28,44	1,85	18,28	0,76
B9	0,019	pI	7,04	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	3,82	43,85	2,35	28,28	2,64	18,36	0,73
B10	0,018	pI	7,05	7,24	7,33	7,43	7,47	7,61	
		% площади	4,05	43,79	2,23	28,42	2,77	18,04	0,72

Фиг. 13

T = 0 MFI результаты:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (частицы/мл)			
			> 2 мкм до < 5 мкм	> 5 мкм до < 10 мкм	> 10 мкм до < 25 мкм	> 25 мкм
STM-PDA-0121	Анализ частиц с помощью визуализации MicroFluid (MFI)	A1	2240	370	158	23
		A2	2133	457	174	48
		A3	1564	349	195	48
		A4	2463	528	200	30
		A5	3941	777	313	67
		A6	3835	791	316	85
		A7	3595	831	360	80
		A8	4538	911	436	96
		A9	4563	872	378	87
		A10	4522	890	339	69
		B1	1656	395	195	32
		B2	1877	450	174	23
		B3	1645	406	232	30
		B4	2605	599	227	18
		B5	4771	851	325	58
		B6	5318	860	367	69
		B7	3476	633	271	69
		B8	4437	835	335	62
		B9	3760	673	215	62
		B10	5585	1116	397	44

Фиг. 14

T = 0 Анализ связывания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
			% относительная активность
STM-QCS-0294	Эффективность ИФА для оценки CHA.7.518.1.H4(S241P)	A1	103,3
		A2	116,7
		A3	85,8
		A4	102,3
		A5	85,9
		A6	110,8
		A7	107,9
		A8	89,4
		A9	86,0
		A10	58,6
		B1	58,6
		B2	83,2
		B3	101,7
		B4	86,0
		B5	76,6
		B6	96,8
		B7	91,4
		B8	95,3
		B9	95,8
		B10	111,2

Фиг. 15

Результаты внешнего вида замораживания/размораживания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
STM-QCS-0008	Внешний вид	A1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц

Фиг. 16

Результаты A280 замораживания/размораживания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (мг/мл)	Результат (мг/мл) Повторение	Результат (мг/мл) с коррекцией 320 нм
STM-QCS-0252	Определение концентрации белка с помощью SoloVPE	A1	26,9	20,8	20,2
		A2	25,7	23,8	20,2
		A3	24,1	22,9	20,1
		A4	23,4	24,1	20,1
		A5	27,3	25,1	20,1
		A6	24,6	23,0	20,4
		A7	22,6	22,9	20,3
		A8	22,3	22,0	20,3
		A9	21,4	22,2	20,4
		A10	20,6	24,1	20,5
		B1	20,2	23,0	19,5
		B2	20,7	22,6	20,6
		B3	20,6	24,9	19,9
		B4	21,0	26,5	20,4
		B5	20,9	23,1	20,1
		B6	20,8	22,4	20,0
		B7	21,0	22,3	20,6
		B8	21,0	22,1	20,5
		B9	21,1	22,4	20,7
		B10	20,9	22,8	20,5

Фиг. 17

Результаты LabChip замораживания/размораживания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат		
			% интактных (NR)	% легкой цепи (R)	% тяжелой цепи (R)
STM-PDA-0120	Определение чистоты IgG с помощью LabChip (невосстановленные и восстановленные)	A1	97,61	18,96	80,86
		A2	97,80	19,20	80,80
		A3	97,82	19,20	80,80
		A4	97,71	19,28	80,72
		A5	97,77	19,18	80,82
		A6	97,69	19,19	80,81
		A7	97,68	18,84	80,95
		A8	97,70	18,45	81,37
		A9	97,72	18,91	81,09
		A10	97,73	18,67	81,33
		B1	96,89	18,64	81,36
		B2	96,93	18,50	81,50
		B3	96,42	18,19	81,81
		B4	96,71	18,68	81,32
		B5	97,16	18,47	81,53
		B6	97,11	18,42	81,58
		B7	96,16	18,28	81,72
		B8	96,38	18,42	81,58
		B9	96,85	18,29	81,71
		B10	96,71	18,20	81,80

Фиг. 18

Результаты SEC замораживания/размораживания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			Общая площадь	Высокий MW (%)	Основной пик (%)	Низкий MW (%)
STM-QCS-0195	Эксклюзионная хроматография для определения агрегации белков	A1	162,491	1,13	98,88	0,00
		A2	164,849	1,15	98,86	0,00
		A3	137,436	1,15	98,85	0,00
		A4	146,473	1,11	98,90	0,00
		A5	137,602	1,10	98,91	0,00
		A6	154,031	1,11	98,89	0,00
		A7	147,096	1,13	98,87	0,00
		A8	140,629	1,12	98,88	0,00
		A9	152,443	1,14	98,87	0,00
		A10	148,292	1,12	98,89	0,00
		B1	142,670	1,18	98,82	0,00
		B2	150,131	1,13	98,87	0,00
		B3	171,878	1,19	98,82	0,00
		B4	157,839	1,12	98,88	0,00
		B5	164,659	1,15	98,86	0,00
		B6	152,468	1,14	98,86	0,00
		B7	154,694	1,16	98,84	0,00
		B8	156,443	1,16	98,85	0,00
		B9	152,817	1,14	98,87	0,00
		B10	170,464	1,14	98,86	0,00

Фиг. 19

Результаты cIEF замораживания/размораживания:

Номер анализа		STM-QCS-0151							
Анализ		Изоэлектрическая точка с применением визуализированного анализа cIEF							
Состав	Общая интегрированная площадь	Результат							
		pI / % площади	Второстепенные виды 1	Главные виды 1	Второстепенные виды 2	Главные виды 2	Второстепенные виды 3	Главные виды 3	Основной
A1	0,015	pI	7,05	7,24	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,83	42,89	2,67	28,67	2,28	18,81	0,87
A2	0,016	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,48	7,61	
		% площади	3,89	44,00	2,27	28,41	2,24	18,36	0,85
A3	0,018	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	4,06	44,24	2,72	28,00	2,09	18,18	0,72
A4	0,017	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,47	7,61	
		% площади	3,96	44,01	2,37	28,32	2,40	18,26	0,69
A5	0,014	pI	7,05	7,24	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,60	43,50	2,38	28,65	2,20	18,69	0,99
A6	0,016	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,48	7,61	
		% площади	3,80	43,91	2,41	28,42	2,12	18,49	0,87
A7	0,016	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,89	43,88	2,76	28,23	2,12	18,35	0,79
A8	0,016	pI	7,05	7,25	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,71	43,32	2,60	28,62	2,23	18,65	0,87
A9	0,016	pI	7,04	7,25	7,34	7,43	7,47	7,61	
		% площади	4,00	44,05	2,56	28,18	2,01	18,48	0,73
A10	0,016	pI	7,05	7,25	7,34	7,43	7,47	7,61	
		% площади	3,58	43,86	2,36	28,42	2,29	18,58	0,94
B1	0,015	pI	7,05	7,25	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	4,09	42,53	2,77	28,82	1,97	18,83	1,00
B2	0,017	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,48	7,61	
		% площади	3,81	43,89	2,49	28,16	2,08	18,75	0,84
B3	0,016	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,74	43,85	2,75	28,14	2,07	18,58	0,90
B4	0,014	pI	7,05	7,25	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,74	44,11	2,41	28,50	2,09	18,31	0,86
B5	0,015	pI	7,04	7,25	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,81	43,43	2,44	28,45	2,12	18,78	0,99
B6	0,020	pI	7,05	7,24	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	4,06	43,94	2,43	28,29	2,05	18,54	0,71
B7	0,014	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	4,12	42,81	2,77	28,51	2,20	18,67	0,94
B8	0,015	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	4,03	43,17	2,58	28,73	2,08	18,56	0,87
B9	0,018	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,47	7,61	
		% площади	4,04	43,95	2,42	28,04	2,59	18,27	0,71
B10	0,017	pI	7,04	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	3,78	44,09	2,39	28,21	2,57	18,26	0,72

Фиг. 20

Результаты MFI замораживания/размораживания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			> 2 мкм до < 5 мкм	> 5 мкм до < 10 мкм	> 10 мкм до < 25 мкм	> 25 мкм
STM-PDA-0121	Анализ частиц с помощью визуализации MicroFluid (MFI)	A1	25218	6704	1090	16
		A2	2811	445	112	32
		A3	9889	2087	543	23
		A4	2854	484	163	23
		A5	3533	654	317	37
		A6	3540	741	289	55
		A7	2273	477	149	7
		A8	2432	532	211	18
		A9	3948	598	303	57
		A10	3873	767	259	44
		B1	31759	11737	3653	105
		B2	1108	259	89	25
		B3	3288	626	156	5
		B4	1172	255	108	16
		B5	3593	686	301	46
		B6	3542	645	234	41
		B7	2599	518	241	30
		B8	2519	571	252	25
		B9	3370	643	282	62
		B10	3606	745	290	48

Фиг. 21

Анализ связывания замораживания/размораживания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
			% относительная активность
STM-QCS-0294	Эффективность ИФА для оценки CHA.7.518.1.H4(S241P)	A1	106,8
		A2	111,1
		A3	68,9
		A4	84,7
		A5	91,7
		A6	86,6
		A7	85,3
		A8	72,3
		A9	82,0
		A10	97,3
		B1	84,0
		B2	96,0
		B3	88,2
		B4	80,3
		B5	77,2
		B6	113,8
		B7	94,9
		B8	106,2
		B9	94,3
		B10	95,0

Фиг. 22

Результаты внешнего вида перемешивания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
STM-QCS-0008	Внешний вид	A1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц

Фиг. 23

Результаты A280 перемешивания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (мг/мл)
STM-QCS-0252	Определение концентрации белка с помощью SoloVPE	A1	20,5
		A2	20,6
		A3	20,5
		A4	20,7
		A5	20,7
		A6	20,8
		A7	20,8
		A8	20,8
		A9	20,8
		A10	20,9
		B1	20,3
		B2	21,4
		B3	23,8
		B4	23,8
		B5	22,9
		B6	22,5
		B7	23,7
		B8	21,6
		B9	20,7
		B10	20,9

Фиг. 24

Результаты LabChip перемешивания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат		
			% интактных (NR)	% легкой цепи (R)	% тяжелой цепи (R)
STM-PDA-0120	Определение чистоты IgG с помощью LabChip (невосстановленные и восстановленные)	A1	96,55	17,23	82,62
		A2	97,26	17,76	82,24
		A3	97,22	17,67	82,21
		A4	97,18	18,54	21,47
		A5	97,24	17,79	82,21
		A6	96,99	17,55	82,15
		A7	97,24	17,49	82,51
		A8	96,50	17,41	82,59
		A9	96,86	17,56	82,28
		A10	97,06	17,40	82,40
		B1	96,67	17,79	82,21
		B2	96,78	17,71	82,29
		B3	96,52	17,83	82,17
		B4	96,86	17,71	82,29
		B5	96,74	17,74	82,26
		B6	95,96	17,82	82,18
		B7	95,82	17,11	79,73
		B8	96,01	17,67	82,15
		B9	96,41	17,78	81,99
		B10	96,39	17,44	81,74

Фиг. 25

Результаты SEC перемешивания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			Общая площадь	Высокий MW (%)	Основной пик (%)	Низкий MW (%)
STM-QCS-0195	Эксклюзионная хроматография для определения агрегации белков	A1	158,989	1,00	99,01	0,00
		A2	158,406	0,96	99,05	0,00
		A3	135,114	0,99	99,02	0,00
		A4	148,112	0,97	99,03	0,00
		A5	142,845	0,97	99,03	0,00
		A6	147,839	0,95	99,05	0,00
		A7	143,145	0,97	99,04	0,00
		A8	138,815	0,96	99,05	0,00
		A9	148,432	0,95	99,06	0,00
		A10	141,647	0,95	99,06	0,00
		B1	141,729	1,01	99,00	0,00
		B2	148,305	0,97	99,04	0,00
		B3	187,925	0,99	99,02	0,00
		B4	155,431	0,95	99,06	0,00
		B5	158,196	0,95	99,05	0,00
		B6	160,548	0,94	99,06	0,00
		B7	161,665	0,96	99,05	0,00
		B8	160,950	0,97	99,04	0,00
		B9	145,911	0,93	99,08	0,00
		B10	156,747	0,92	99,08	0,00

Фиг. 26

Результаты cIEF перемешивания:

Номер анализа		STM-QCS-0151							
Анализ		Изоэлектрическая точка с применением визуализированного анализа cIEF							
Состав	Общая интегрированная площадь	Результат							
		pI / % площади	Второстепенные виды 1	Главные виды 1	Второстепенные виды 2	Главные виды 2	Второстепенные виды 3	Главные виды 3	Основной
A1	0,013	pI	7,05	7,25	7,34	7,43	7,47	7,62	
		% площади	3,88	42,50	2,30	28,92	2,60	18,86	0,97
A2	0,017	pI	7,05	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	4,02	43,72	2,35	28,36	2,56	18,22	0,79
A3	0,018	pI	7,05	7,24	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	3,91	43,89	2,43	28,19	2,26	18,41	0,93
A4	0,016	pI	7,05	7,25	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,80	43,75	2,43	28,32	2,24	18,45	1,01
A5	0,017	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,48	7,61	
		% площади	4,04	43,52	2,57	27,72	2,05	18,98	1,14
A6	0,016	pI	7,05	7,25	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,79	44,09	2,34	28,46	2,18	18,29	0,85
A7	0,016	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,49	7,62	
		% площади	4,03	43,76	2,63	28,17	1,88	18,67	0,88
A8	0,016	pI	7,05	7,24	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	4,31	43,22	2,69	28,17	2,17	18,47	0,99
A9	0,016	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	3,95	43,85	2,37	28,26	2,19	18,41	0,99
A10	0,017	pI	7,05	7,25	7,33	7,43	7,47	7,61	
		% площади	3,97	43,73	2,33	28,48	2,29	18,51	0,70
B1	0,015	pI	7,05	7,25	7,34	7,43	7,48	7,63	
		% площади	3,95	42,63	2,57	28,62	2,35	18,80	1,10
B2	0,017	pI	7,05	7,24	7,33	7,43	7,48	7,61	
		% площади	3,83	44,09	2,36	28,19	2,10	18,54	0,91
B3	0,018	pI	7,05	7,25	7,33	7,42	7,48	7,61	
		% площади	4,01	44,25	2,56	28,23	2,06	18,09	0,81
B4	0,018	pI	7,05	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	3,91	44,18	2,27	28,03	2,68	18,21	0,72
B5	0,020	pI	7,04	7,24	7,34	7,43	7,48	7,61	
		% площади	4,61	43,82	2,14	28,04	2,38	18,34	0,69
B6	0,016	pI	7,05	7,24	7,33	7,43	7,48	7,61	
		% площади	3,99	44,52	2,34	27,71	2,37	18,30	0,80
B7	0,021	pI	7,04	7,24	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	4,25	43,99	2,49	28,01	2,00	18,29	0,99
B8	0,017	pI	7,05	7,24	7,33	7,43	7,48	7,61	
		% площади	3,99	44,10	2,47	28,44	1,93	18,28	0,80
B9	0,018	pI	7,04	7,24	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	4,01	43,74	2,51	28,11	2,72	18,11	0,81
B10	0,019	pI	7,04	7,24	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	3,77	44,20	2,28	28,22	2,67	18,16	0,73

Фиг. 27

Результаты MFI перемешивания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (частицы/мл)			
			> 2 мкм до < 5 мкм	> 5 мкм до < 10 мкм	> 10 мкм до < 25 мкм	> 25 мкм
STM-PDA-0121	Анализ частиц с помощью визуализации MicroFluid (MFI)	A1	870	177	67	7
		A2	1176	234	115	25
		A3	3737	457	92	11
		A4	1775	308	94	14
		A5	3497	658	244	44
		A6	3725	733	319	41
		A7	2635	526	239	28
		A8	3175	705	303	44
		A9	4462	769	264	60
		A10	3971	685	276	57
		B1	1325	416	156	14
		B2	1293	312	115	23
		B3	763	177	74	14
		B4	1540	275	140	23
		B5	3540	739	301	48
		B6	4003	795	375	106
		B7	2532	539	280	39
		B8	3129	606	253	51
		B9	3881	736	281	37
		B10	3971	737	274	48

Фиг. 28

Анализ связывания перемешивания:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
			% относительная активность
STM-QCS-0294	Эффективность ИФА для оценки CHA.7.518.1.H4(S241P)	A1	103,1
		A2	105,2
		A3	89,4
		A4	95,8
		A5	92,2
		A6	92,7
		A7	86,6
		A8	85,6
		A9	86,9
		A10	76,7
		B1	85,9
		B2	85,5
		B3	104,2
		B4	101,5
		B5	96,2
		B6	96,9
		B7	81,5
		B8	55,4
		B9	80,5
		B10	85,9

Фиг. 29

Результаты внешнего вида 1 неделя 40°C:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
STM-QCS-0008	Внешний вид	A1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц

Фиг. 30

Результаты A280 1 неделя 40°C:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (мг/мл)
12STM-QCS-0252	Определение концентрации белка с помощью SoloVPE	A1	20,7
		A2	20,9
		A3	20,7
		A4	21,0
		A5	20,8
		A6	20,9
		A7	20,9
		A8	21,0
		A9	20,9
		A10	21,1
		B1	20,5
		B2	21,1
		B3	20,9
		B4	21,1
		B5	21,0
		B6	21,0
		B7	20,9
		B8	21,3
		B9	21,1
		B10	21,4

Фиг. 31

Результаты LabChip 1 неделя 40°C:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат		
			% интактных (NR)	% легкой цепи (R)	% тяжелой цепи (R)
STM-PDA-0120	Определение чистоты IgG с помощью LabChip (невосстановленные и восстановленные)	A1	96,77	17,93	81,60
		A2	96,59	17,91	81,69
		A3	97,22	18,12	81,57
		A4	97,16	17,81	80,60
		A5	95,61	17,74	81,91
		A6	97,32	17,45	82,18
		A7	97,10	17,98	81,78
		A8	96,80	17,83	81,91
		A9	97,01	17,68	81,18
		A10	97,18	17,89	81,45
		B1	95,94	18,25	81,75
		B2	95,98	18,24	81,76
		B3	95,15	18,23	81,77
		B4	95,76	18,62	81,38
		B5	95,86	18,64	81,36
		B6	93,74	18,67	80,69
		B7	96,06	18,63	81,37
		B8	95,72	18,96	81,04
		B9	95,68	18,94	81,06
		B10	95,91	19,29	80,71

Фиг. 32

Результаты SEC 1 неделя 40°C:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			Общая площадь	Высокий MW (%)	Основной пик (%)	Низкий MW (%)
STM-QCS-0195	Эксклюзионная хроматография для определения агрегации белков	A1	165,701	1,16	97,58	1,28
		A2	165,118	1,16	97,56	1,29
		A3	133,624	1,16	97,56	1,29
		A4	146,203	1,16	97,57	1,29
		A5	141,642	1,15	97,59	1,31
		A6	146,758	1,10	97,61	1,30
		A7	144,145	1,09	97,58	1,28
		A8	138,764	1,15	97,58	1,29
		A9	150,523	1,14	97,56	1,32
		A10	142,999	1,13	97,56	1,32
		B1	141,721	1,21	97,59	1,21
		B2	144,698	1,12	97,70	1,18
		B3	167,818	1,16	97,67	1,17
		B4	148,755	1,10	97,74	1,17
		B5	160,228	1,08	97,73	1,20
		B6	153,873	1,09	97,75	1,17
		B7	145,470	1,16	97,67	1,18
		B8	153,537	1,13	97,69	1,18
		B9	148,410	1,06	97,77	1,17
		B10	158,008	1,07	97,77	1,16

Фиг. 33

Результаты cIEF 1 неделя 40°C:

Номер анализа		STM-QCS-0151								
Анализ		Изоэлектрическая точка с применением визуализированного анализа cIEF								
Состав	Общая интегрированная площадь	Результат								
		pI / % площади	Второстепенные виды 1	Главные виды 4	Главные виды 1	Второстепенные виды 2	Главные виды 2	Второстепенные виды 3	Главные виды 3	Основной
A1	0,017	pI	7,07	7,10	7,25	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	4,00	2,58	41,92	2,67	27,98	2,80	17,53	0,54
A2	0,016	pI	7,06	7,10	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	4,09	2,06	42,48	2,67	27,88	2,56	17,55	0,74
A3	0,016	pI	7,06	7,09	7,25	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	4,00	2,15	42,48	2,81	27,71	2,87	17,55	0,46
A4	0,017	pI	7,06	7,10	7,24	7,32	7,41	7,46	7,60	
		% площади	4,22	1,77	43,01	2,66	27,66	2,74	17,44	0,51
A5	0,019	pI	7,06	7,10	7,24	7,32	7,41	7,46	7,60	
		% площади	4,01	2,09	42,24	2,69	27,52	2,91	17,81	0,75
A6	0,017	pI	7,07	7,10	7,24	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	4,16	1,94	42,60	2,44	28,01	2,34	17,91	0,62
A7	0,016	pI	7,06	7,10	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	3,68	2,59	42,10	2,60	28,07	2,65	17,88	0,46
A8	0,017	pI	7,07	7,10	7,25	7,33	7,43	7,47	7,61	
		% площади	3,95	2,57	42,35	2,49	27,96	2,71	17,47	0,52
A9	0,018	pI	7,06	7,09	7,24	7,33	7,42	7,46	7,60	
		% площади	4,00	1,81	43,06	2,52	27,82	2,76	17,56	0,49
A10	0,017	pI	7,06	7,10	7,24	7,32	7,42	7,47	7,60	
		% площади	4,07	1,81	42,36	2,71	27,90	2,58	17,92	0,67
B1	0,017	pI	7,07		7,24	7,32	7,42	7,46	7,61	
		% площади	7,18		42,47	2,27	27,98	2,38	17,29	0,45
B2	0,017	pI	7,07		7,24	7,32	7,42	7,47	7,61	
		% площади	6,82		42,96	2,28	28,01	1,88	17,38	0,70
B3	0,016	pI	7,07		7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	7,24		42,48	2,09	28,24	2,15	17,31	0,50
B4	0,016	pI	7,07		7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	6,52		43,23	2,14	27,97	2,21	17,40	0,56
B5	0,017	pI	7,07		7,24	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	6,94		43,19	2,13	27,83	1,99	17,40	0,54
B6	0,017	pI	7,07		7,24	7,33	7,42	7,47	7,60	
		% площади	6,72		43,46	2,02	27,99	1,93	17,43	0,47
B7	0,017	pI	7,07		7,24	7,32	7,42	7,47	7,61	
		% площади	7,18		42,76	2,17	28,23	2,03	17,16	0,50
B8	0,016	pI	7,07		7,24	7,32	7,42	7,47	7,61	
		% площади	7,05		42,65	2,26	28,23	2,23	17,17	0,43
B9	0,021	pI	7,06	7,09	7,24	7,32	7,41	7,45	7,60	
		% площади	5,06	1,35	43,32	2,22	27,41	2,62	17,47	0,58
B10	0,020	pI	7,06	7,09	7,24	7,32	7,41	7,46	7,60	
		% площади	5,10	1,20	43,27	2,20	27,82	2,65	17,27	0,51

Фиг. 34

Результаты MFI 1 неделя 40°C:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (частицы/мл)			
			> 2 мкм до < 5 мкм	> 5 мкм до < 10 мкм	> 10 мкм до < 25 мкм	> 25 мкм
STM-PDA-0121	Анализ частиц с помощью визуализации MicroFluid (MFI)	A1	11486	1820	286	14
		A2	1208	248	112	21
		A3	704	144	50	5
		A4	1399	277	99	23
		A5	4737	1013	337	34
		A6	4746	999	408	60
		A7	3245	685	241	11
		A8	3703	731	277	18
		A9	4205	951	376	41
		A10	4609	977	300	55
		B1	438	103	21	2
		B2	1210	190	89	16
		B3	736	147	55	2
		B4	1378	271	92	16
		B5	4379	864	346	53
		B6	4585	957	306	46
		B7	3139	667	273	23
		B8	3327	762	333	32
		B9	4697	980	347	78
		B10	4842	1057	329	44

Фиг. 35

Анализ связывания 1 неделя 40°C:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
			% относительная активность
STM-QCS-0294	Эффективность ИФА для оценки CHA.7.518.1.H4(S241P)	A1	104,8
		A2	97,2
		A3	84,7
		A4	87,6
		A5	83,8
		A6	104,6
		A7	91,0
		A8	96,9
		A9	52,9
		A10	98,9
		B1	72,1
		B2	118,1
		B3	88,1
		B4	77,2
		B5	83,5
		B6	92,2
		B7	95,5
		B8	95,1
		B9	82,9
		B10	100,3

Фиг. 36

Результаты внешнего вида 40°C 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
STM-QCS-0008	Внешний вид	A1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц

Фиг. 37

Результаты A280 40°C 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (мг/мл)
STM-QCS-0252	Определение концентрации белка с помощью SoloVPE	A1	21,3
		A2	21,4
		A3	21,5
		A4	21,6
		A5	21,6
		A6	21,6
		A7	21,5
		A8	21,5
		A9	21,6
		A10	21,6
		B1	21,8
		B2	21,6
		B3	21,5
		B4	21,6
		B5	21,8
		B6	21,9
		B7	21,9
		B8	21,8
		B9	22,0
		B10	21,7

Фиг. 38

Результаты LabChip 40°C 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат		
			% интактных (NR)	% легкой цепи (R)	% тяжелой цепи (R)
STM-PDA-0120	Определение чистоты IgG с помощью LabChip (невосстановленные и восстановленные)	A1	94,02	20,19	79,61
		A2	94,36	20,23	79,56
		A3	93,54	20,20	79,68
		A4	94,51	20,34	79,47
		A5	94,40	20,37	79,51
		A6	94,44	20,35	79,53
		A7	94,18	20,11	79,88
		A8	94,15	20,23	79,54
		A9	94,43	20,61	79,15
		A10	94,47	20,40	79,41
		B1	93,51	20,08	79,74
		B2	93,15	20,24	79,54
		B3	92,94	20,10	79,68
		B4	93,22	20,28	79,49
		B5	92,74	20,24	79,52
		B6	93,11	20,20	79,58
		B7	93,24	20,05	79,72
		B8	93,43	20,12	79,66
		B9	92,88	20,20	79,56
		B10	93,01	20,27	79,48

Фиг. 39

Результаты SEC 40°C 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			Общая площадь	Высокий MW (%)	Основной пик (%)	Низкий MW (%)
STM-QCS-0195	Эксклюзионная хроматография для определения агрегации белков	A1	165,974	1,19	95,29	3,54
		A2	160,612	1,17	95,39	3,45
		A3	139,199	1,18	95,37	3,45
		A4	150,334	1,19	95,38	3,44
		A5	147,619	1,09	95,44	3,48
		A6	153,114	1,11	95,50	3,39
		A7	147,335	1,13	95,46	3,41
		A8	142,876	1,12	95,50	3,39
		A9	153,198	1,13	95,52	3,37
		A10	147,100	1,11	95,51	3,38
		B1	148,058	1,13	95,62	3,26
		B2	149,628	1,02	95,80	3,19
		B3	169,695	1,09	95,72	3,20
		B4	140,870	0,98	95,87	3,15
		B5	158,877	0,99	95,85	3,17
		B6	154,362	0,97	95,89	3,15
		B7	149,889	1,06	95,82	3,13
		B8	154,025	1,04	95,84	3,13
		B9	152,076	0,97	95,98	3,06
		B10	162,569	0,98	96,02	3,01

Фиг. 40

Результаты cIEF 40°C 2 неделя:

Номер анализа		STM-QCS-0151									
Анализ		Изоэлектрическая точка с применением визуализированного анализа cIEF									
Состав	Общая интегрированная площадь	Результат									
		pI / % площади	Acidic	Второстепенные виды 1	Главные виды 4	Главные виды 1	Второстепенные виды 2	Главные виды 2	Второстепенные виды 3	Главные виды 3	Основной
A1	0,015	pI		7,09	NA	7,25	7,33	7,42	7,48	7,59	
		% площади	0,45	9,0	NA	40,20	3,07	27,26	2,28	17,50	0,26
A2	0,016	pI		7,07	7,11	7,25	7,34	7,43	7,47	7,60	
		% площади	0,75	5,24	2,55	41,82	2,78	26,87	2,57	17,13	0,31
A3	0,015	pI		7,09	NA	7,26	7,32	7,43	7,47	7,60	
		% площади	0,53	8,56	NA	40,69	3,28	27,36	2,74	16,76	0,10
A4	0,017	pI		7,08	7,11	7,26	7,32	7,43	7,48	7,61	
		% площади	0,88	5,58	2,69	40,63	2,71	27,33	3,03	16,92	0,26
A5	0,016	pI		7,07	7,11	7,25	7,32	7,43	7,47	7,61	
		% площади	0,53	4,96	2,77	41,16	2,74	27,97	2,63	17,05	0,23
A6	0,015	pI		7,08	7,11	7,25	7,31	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,54	5,31	2,53	40,66	3,16	28,35	2,54	16,84	0,09
A7	0,016	pI		7,09	7,11	7,25	7,32	7,43	7,47	7,61	
		% площади	0,50	5,97	2,68	41,20	2,66	27,64	2,81	16,38	0,16
A8	0,015	pI		7,09	7,12	7,26	7,32	7,43	7,47	7,61	
		% площади	0,45	5,56	3,11	41,00	2,63	27,84	3,12	16,16	0,15
A9	0,016	pI		7,08	7,11	7,26	7,32	7,43	7,47	7,61	
		% площади	0,51	4,89	2,52	40,93	3,10	27,95	2,45	17,26	0,42
A10	0,016	pI		7,08	7,11	7,26	7,32	7,43	7,47	7,60	
		% площади	0,66	5,03	2,88	40,44	2,97	28,19	2,47	17,15	0,24
B1	0,016	pI		7,09	7,12	7,26	7,33	7,43	7,47	7,61	
		% площади	1,44	8,55	2,15	40,78	2,44	25,75	2,66	15,89	0,37
B2	0,016	pI		7,08	7,11	7,26	7,32	7,43	7,48	7,61	
		% площади	1,16	7,35	1,91	40,86	2,56	27,16	1,75	17,00	0,27
B3	0,016	pI		7,08	7,11	7,26	7,32	7,43	7,47	7,61	
		% площади	1,00	8,00	1,91	41,41	2,02	26,83	2,61	16,09	0,15
B4	0,016	pI		7,08	7,11	7,26	7,32	7,42	7,48	7,61	
		% площади	0,94	7,01	1,89	41,11	2,52	28,02	1,62	16,69	0,22
B5	0,016	pI		7,08	7,11	7,26	7,32	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,10	7,64	1,74	40,70	2,48	27,75	1,95	16,46	0,21
B6	0,016	pI		7,08	7,12	7,26	7,31	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,84	7,33	1,55	41,18	2,45	27,91	2,00	16,46	0,32
B7	0,017	pI		7,09	7,11	7,26	7,32	7,42	7,47	7,62	
		% площади	1,23	7,66	2,16	40,86	2,58	21,10	2,42	15,51	0,51
B8	0,018	pI		7,08	7,12	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,16	8,10	2,10	40,52	2,60	27,11	2,34	15,85	0,25
B9	0,018	pI		7,08	7,11	7,25	7,32	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,08	7,05	2,03	40,60	2,87	27,99	1,59	16,54	0,25
B10	0,019	pI		7,08	7,12	7,26	7,32	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,85	7,32	1,80	41,22	2,57	26,91	2,06	16,34	0,26

Фиг. 41

Результаты MFI 40°C 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			> 2 мкм до < 5 мкм	> 5 мкм до < 10 мкм	> 10 мкм до < 25 мкм	> 25 мкм
STM-PDA-0121	Анализ частиц с помощью визуализации MicroFluid (MFI)	A1	1695	326	87	9
		A2	1471	213	94	16
		A3	1121	283	124	0
		A4	1594	251	87	12
		A5	3245	1488	921	161
		A6	4299	1507	733	129
		A7	3431	1583	880	149
		A8	3465	1063	518	53
		A9	3581	636	218	48
		A10	3859	741	259	30
		B1	539	158	28	0
		B2	1442	274	87	16
		B3	2033	924	614	76
		B4	2324	871	528	85
		B5	5628	1791	961	113
		B6	5318	1746	865	193
		B7	2443	479	197	23
		B8	2676	587	259	18
		B9	3486	679	235	32
		B10	5297	835	288	30

Фиг. 42

Анализ связывания 40°C 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
			% относительная активность
STM-QCS-0294	Эффективность ИФА для оценки CHA.7.518.1.H4(S241P)	A1	124,4
		A2	100,7
		A3	83,8
		A4	90,6
		A5	85,3
		A6	81,7
		A7	83,2
		A8	62,5
		A9	95,0
		A10	89,6
		B1	95,8
		B2	94,9
		B3	107,2
		B4	87,3
		B5	96,1
		B6	97,2
		B7	96,2
		B8	99,5
		B9	93,7
		B10	107,3

Фиг. 43

Результаты внешнего вида Окружающая среда 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
STM-QCS-0008	Внешний вид	A1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц

Фиг. 44

Результаты A280 Окружающая среда 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (мг/мл)
STM-QCS-0252	Определение концентрации белка с помощью SoloVPE	A1	20,8
		A2	21,3
		A3	20,6
		A4	21,0
		A5	21,2
		A6	21,3
		A7	21,2
		A8	20,9
		A9	20,8
		A10	20,9
		B1	20,3
		B2	20,9
		B3	20,9
		B4	20,9
		B5	21,5
		B6	21,0
		B7	21,3
		B8	21,5
		B9	21,8
		B10	21,4

Фиг. 45

Результаты LabChip Окружающая среда 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат		
			% интактных (NR)	% легкой цепи (R)	% тяжелой цепи (R)
STM-PDA-0120	Определение чистоты IgG с помощью LabChip (невосстановленные и восстановленные)	A1	96,93	19,55	76,55
		A2	96,74	20,44	78,15
		A3	96,94	18,79	81,02
		A4	97,03	18,62	80,55
		A5	97,09	19,19	80,81
		A6	97,06	19,63	80,03
		A7	97,09	20,37	79,13
		A8	96,97	19,27	80,31
		A9	96,93	19,22	79,22
		A10	96,95	19,42	79,56
		B1	96,18	19,58	79,88
		B2	96,32	19,32	80,69
		B3	96,20	19,24	80,76
		B4	96,64	19,28	80,72
		B5	96,41	19,16	80,84
		B6	96,51	19,28	80,72
		B7	95,49	19,32	80,68
		B8	95,32	19,17	80,83
		B9	96,33	18,95	81,05
		B10	95,92	18,95	81,05

Фиг. 46

Результаты SEC Окружающая среда 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			Общая площадь	Высокий MW (%)	Основной пик (%)	Низкий MW (%)
STM-QCS-0195	Эксклюзионная хроматография для определения агрегации белков	A1	168,682	1,06	97,91	1,03
		A2	187,583	1,02	97,95	1,04
		A3	160,563	1,06	97,88	1,07
		A4	173,024	1,02	97,91	1,08
		A5	164,984	1,00	98,01	0,99
		A6	166,580	1,00	97,99	1,02
		A7	166,536	1,04	97,93	1,03
		A8	158,303	1,03	97,97	1,01
		A9	171,959	1,02	98,02	0,97
		A10	161,663	1,01	97,94	1,06
		B1	162,230	1,11	97,85	1,05
		B2	171,298	1,02	97,97	1,02
		B3	188,940	1,09	97,86	1,07
		B4	166,806	1,01	97,98	1,01
		B5	172,730	1,01	97,98	1,03
		B6	164,746	1,00	97,98	1,02
		B7	168,017	1,06	97,87	1,08
		B8	167,666	1,06	97,88	1,07
		B9	165,599	1,03	97,96	1,02
		B10	177,316	1,02	97,90	1,08

Фиг. 47

Результаты cIEF Окружающая среда 2 неделя:

Номер анализа			STM-QCS-0151								
Анализ			Изоэлектрическая точка с применением визуализированного анализа cIEF								
Состав	Общая интегрированная площадь	Результат									
		pI / % площади	Кислый	Второстепенные виды 1	Главные виды 4	Главные виды 1	Второстепенные виды 2	Главные виды 2	Второстепенные виды 3	Главные виды 3	Основной
A1	0,017	pI		7,07	7,11	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,46	3,70	1,35	42,89	2,36	28,29	2,39	17,71	0,86
A2	0,018	pI		7,07	7,11	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,59	3,57	1,06	42,91	2,67	28,26	1,96	18,23	0,77
A3	0,017	pI		7,08	7,11	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,94	3,72	1,46	42,63	2,51	28,37	2,17	17,52	0,70
A4	0,016	pI		7,07	7,10	7,26	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	0,40	3,24	1,07	43,45	2,64	28,48	2,19	18,06	0,49
A5	0,017	pI		7,07	7,10	7,26	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	0,90	3,66	1,24	41,86	2,61	27,72	2,57	18,40	1,07
A6	0,017	pI		7,07	7,11	7,25	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	0,86	3,75	1,02	42,26	2,56	27,90	2,78	18,10	0,80
A7	0,017	pI		7,07	7,11	7,26	7,33	7,42	7,47	7,62	
		% площади	0,56	3,83	1,30	43,18	2,63	28,26	2,02	17,49	0,76
A8	0,017	pI		7,07	7,11	7,26	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,65	3,58	1,58	42,63	2,75	28,03	2,26	17,67	0,86
A9	0,017	pI		7,08	7,11	7,26	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,92	3,65	1,29	42,45	2,59	28,00	2,22	18,02	0,88
A10	0,018	pI		7,08	7,11	7,26	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,91	3,97	1,07	42,19	2,51	28,05	2,56	17,84	0,92
B1	0,016	pI		7,08	7,10	7,26	7,34	7,42	7,47	7,62	
		% площади	0,76	4,11	1,33	42,35	2,39	27,91	2,07	18,32	0,78
B2	0,018	pI		7,08	7,10	7,25	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	1,06	4,09	1,29	41,84	2,40	27,70	2,38	18,26	1,01
B3	0,017	pI		7,08	7,10	7,26	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,79	3,69	1,53	42,38	2,64	27,84	2,21	17,91	1,02
B4	0,017	pI		7,07	7,10	7,26	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	0,68	3,76	0,83	43,65	2,44	28,55	1,87	17,65	0,60
B5	0,017	pI		7,08	7,10	7,26	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	0,97	4,11	1,06	42,71	2,58	28,07	2,08	17,82	0,61
B6	0,017	pI		7,08	7,10	7,26	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,95	3,99	1,08	42,51	2,65	28,01	1,82	18,21	0,79
B7	0,018	pI		7,08	7,10	7,26	7,33	7,42	7,47	7,62	
		% площади	0,66	3,99	1,08	43,82	2,32	28,13	2,04	17,31	0,53
B8	0,018	pI		7,08	7,10	7,26	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	1,14	4,37	1,20	42,45	2,22	28,12	1,96	17,80	0,77
B9	0,020	pI		7,08	7,10	7,26	7,32	7,41	7,46	7,61	
		% площади	0,94	3,88	1,15	42,60	2,65	27,94	1,89	18,19	0,80
B10	0,020	pI		7,08	7,10	7,26	7,33	7,41	7,46	7,61	
		% площади	1,15	4,11	1,38	42,10	2,81	27,31	2,34	18,06	0,76

Фиг. 48

Результаты MFI Окружающая среда 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			> 2 мкм до < 5 мкм	> 5 мкм до < 10 мкм	> 10 мкм до < 25 мкм	> 25 мкм
STM-PDA-0121	Анализ частиц с помощью визуализации MicroFluid (MFI)	A1	12513	2738	464	32
		A2	3120	1612	99	18
		A3	1969	709	219	16
		A4	2705	830	494	78
		A5	4640	1535	745	156
		A6	4735	1738	1048	173
		A7	2860	560	230	14
		A8	2612	563	209	34
		A9	3626	688	290	51
		A10	10189	2433	1401	229
		B1	2390	427	182	46
		B2	2825	1005	472	62
		B3	1052	393	243	25
		B4	2569	1050	696	103
		B5	4538	1594	1064	200
		B6	4566	1922	1262	293
		B7	4047	1518	1070	200
		B8	3718	1528	928	207
		B9	5642	2146	1311	223
		B10	6270	2202	1048	172

Фиг. 49

Анализ связывания Окружающая среда 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
			% относительная активность
STM-QCS-0294	Эффективность ИФА для оценки CHA.7.518.1.H4(S241P)	A1	99,7
		A2	96,7
		A3	86,5
		A4	78,5
		A5	82,3
		A6	82,6
		A7	85,3
		A8	52,3
		A9	84,9
		A10	75,0
		B1	81,6
		B2	91,1
		B3	99,8
		B4	90,2
		B5	96,8
		B6	88,9
		B7	82,3
		B8	83,7
		B9	92,3
		B10	90,9

Фиг. 50

Результаты внешнего вида Окружающая среда 4 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
STM-QCS-0008	Внешний вид	A1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц

Фиг. 51

Результаты A280 Окружающая среда 4 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (мг/мл)
STM-QCS-0252	Определение концентрации белка с помощью SoloVPE	A1	21,3
		A2	21,9
		A3	21,7
		A4	21,4
		A5	21,7
		A6	21,8
		A7	21,9
		A8	21,7
		A9	21,4
		A10	21,8
		B1	21,1
		B2	21,7
		B3	21,6
		B4	21,8
		B5	21,8
		B6	21,9
		B7	22,3
		B8	22,4
		B9	22,5
		B10	22,5

Фиг. 52

Результаты LabChip Окружающая среда 4 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат		
			% интактных (NR)	% легкой цепи (R)	% тяжелой цепи (R)
STM-PDA-0120	Определение чистоты IgG с помощью LabChip (невосстановленные и восстановленные)	A1	98,05	18,68	81,10
		A2	97,65	18,53	81,28
		A3	97,69	18,64	81,20
		A4	97,55	18,61	81,19
		A5	97,65	18,39	81,47
		A6	97,65	18,32	81,42
		A7	97,41	18,60	81,40
		A8	98,09	18,57	81,43
		A9	97,41	18,13	81,59
		A10	97,43	18,51	81,31
		B1	97,25	18,46	81,47
		B2	97,16	18,42	81,55
		B3	97,23	18,39	81,61
		B4	97,05	18,36	81,64
		B5	96,97	18,59	81,41
		B6	95,23	18,41	81,25
		B7	96,34	18,15	81,79
		B8	96,01	18,17	81,83
		B9	96,32	18,47	81,53
		B10	96,32	18,06	81,94

Фиг. 53

Результаты SEC Окружающая среда 4 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			Общая площадь	Высокий MW (%)	Основной пик (%)	Низкий MW (%)
STM-QCS-0195	Эксклюзионная хроматография для определения агрегации белков	A1	170,742	1,04	97,64	1,33
		A2	196,153	0,96	97,77	1,28
		A3	145,511	1,00	97,70	1,30
		A4	164,893	0,95	97,78	1,28
		A5	171,199	0,95	97,79	1,27
		A6	172,365	0,95	97,79	1,26
		A7	162,320	0,99	97,68	1,33
		A8	153,044	0,96	97,73	1,32
		A9	174,653	0,95	97,71	1,35
		A10	154,809	0,94	97,73	1,34
		B1	174,171	1,08	97,57	1,36
		B2	173,827	0,96	97,74	1,31
		B3	192,953	1,00	97,72	1,28
		B4	147,154	0,93	97,81	1,27
		B5	177,206	0,95	97,76	1,29
		B6	165,952	0,92	97,77	1,31
		B7	162,447	1,00	97,74	1,26
		B8	172,511	0,98	97,73	1,29
		B9	159,431	0,92	97,83	1,25
		B10	178,740	0,93	97,80	1,28

Фиг. 54

Результаты cIEF Окружающая среда 4 неделя:

Номер анализа			STM-QCS-0151								
Анализ			Изоэлектрическая точка с применением визуализированного анализа cIEF								
Состав	Общая интегрированная площадь	Результат									
		pI / % площади	Кислый	Второстепенные виды 1	Второстепенные виды 4	Главные виды 1	Второстепенные виды 2	Главные виды 2	Второстепенные виды 3	Главные виды 3	Основной
A1	0,017	pI		7,08	7,11	7,25	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,45	4,37	2,18	41,54	2,57	27,23	2,52	17,30	0,86
A2	0,017	pI		7,07	7,10	7,25	7,33	7,43	7,47	7,62	
		% площади	1,60	4,36	1,86	41,56	2,57	27,76	1,99	17,81	0,53
A3	0,016	pI		7,07	7,11	7,25	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	0,70	3,99	1,76	43,39	2,42	26,50	1,85	17,10	0,32
A4	0,016	pI		7,07	7,10	7,25	7,33	7,42	7,48	7,61	
		% площади	0,89	3,98	1,50	42,30	2,76	28,17	2,07	17,87	0,48
A5	0,016	pI		7,07	7,11	7,25	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	0,72	3,83	1,45	42,98	2,38	28,47	1,71	18,16	0,31
A6	0,017	pI		7,07	7,10	7,26	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	0,86	3,85	1,50	42,42	2,48	28,32	1,81	18,36	0,43
A7	0,017	pI		7,07	7,11	7,25	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	0,90	4,24	1,71	41,84	2,73	27,62	2,52	17,65	0,82
A8	0,016	pI		7,08	7,11	7,25	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,08	4,12	2,10	41,73	2,50	27,91	2,55	17,43	0,61
A9	0,017	pI		7,07	7,10	7,25	7,33	7,43	7,47	7,61	
		% площади	1,53	4,30	1,80	41,68	2,45	27,71	2,08	17,90	0,57
A10	0,017	pI		7,07	7,10	7,26	7,34	7,43	7,47	7,61	
		% площади	1,30	4,25	1,60	41,37	2,79	27,65	2,22	18,28	0,58
B1	0,016	pI		7,08	7,10	7,26	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,00	4,91	1,67	42,27	2,06	28,42	1,86	17,18	0,64
B2	0,017	pI		7,07	7,11	7,26	7,34	7,43	7,47	7,62	
		% площади	1,23	5,06	1,32	42,17	2,20	27,84	1,99	17,68	0,52
B3	0,017	pI		7,08	7,10	7,26	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,49	5,18	1,77	41,35	2,32	27,98	1,88	17,38	0,67
B4	0,017	pI		7,07	7,10	7,26	7,33	7,43	7,47	7,61	
		% площади	1,51	4,81	1,57	41,55	2,37	27,84	1,98	17,71	0,67
B5	0,017	pI		7,07	7,10	7,26	7,33	7,43	7,47	7,62	
		% площади	1,79	5,07	1,74	41,14	2,63	27,18	2,29	17,44	0,73
B6	0,019	pI		7,07	7,10	7,26	7,33	7,42	7,48	7,61	
		% площади	1,61	5,10	1,53	41,93	2,38	27,78	1,48	17,64	0,58
B7	0,018	pI		7,08	7,11	7,26	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,30	5,37	1,52	41,57	2,27	27,98	1,88	17,46	0,67
B8	0,018	pI		7,08	7,11	7,25	7,33	7,42	7,47	7,62	
		% площади	1,05	5,19	1,35	42,11	2,12	28,24	1,71	17,61	0,63
B9	0,019	pI		7,07	7,10	7,26	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,37	4,86	1,35	42,12	2,45	27,47	2,18	17,64	0,58
B10	0,019	pI		7,07	7,10	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,59	5,10	1,40	42,21	2,56	27,37	1,98	17,29	0,51

Фиг. 55

Результаты MFI Окружающая среда 4 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			> 2 мкм до < 5 мкм	> 5 мкм до < 10 мкм	> 10 мкм до < 25 мкм	> 25 мкм
STM-PDA-0121	Анализ частиц с помощью визуализации MicroFluid (MFI)	A1	3897	1014	181	12
		A2	1423	578	304	67
		A3	2432	1129	743	109
		A4	1367	486	274	30
		A5	5002	1855	1013	219
		A6	6397	2357	1309	364
		A7	4883	1592	1034	242
		A8	4944	1925	1257	224
		A9	3991	1389	806	100
		A10	6931	2279	1309	158
		B1	3218	1294	746	97
		B2	1206	481	283	25
		B3	2121	964	564	108
		B4	2909	899	384	67
		B5	5506	1659	917	219
		B6	5445	1984	1259	216
		B7	3612	1334	1017	131
		B8	5492	2189	1136	131
		B9	5914	2107	1296	196
		B10	6736	2552	1444	14

Фиг. 56

Анализ связывания Окружающая среда 4 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
			% относительная активность
STM-QCS-0294	Эффективность ИФА для оценки CHA.7.518.1.H4(S241P)	A1	62,5
		A2	89,2
		A3	97,5
		A4	70,0
		A5	97,1
		A6	92,1
		A7	80,6
		A8	99,8
		A9	97,7
		A10	67,9
		B1	87,7
		B2	81,6
		B3	98,4
		B4	84,3
		B5	103,7
		B6	78,1
		B7	113,4
		B8	113,0
		B9	93,3
		B10	74,5

Фиг. 57

Результаты внешнего вида 2-8°C 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
STM-QCS-0008	Внешний вид	A1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц

Фиг. 58

Результаты A280 2-8°C 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (мг/мл)
STM-QCS-0252	Определение концентрации белка с помощью SoloVPE	A1	20,5
		A2	20,6
		A3	20,5
		A4	20,7
		A5	20,7
		A6	20,9
		A7	20,8
		A8	20,8
		A9	20,6
		A10	21,0
		B1	20,3
		B2	21,0
		B3	20,6
		B4	20,8
		B5	20,9
		B6	20,8
		B7	20,8
		B8	20,9
		B9	20,9
		B10	21,2

Фиг. 59

Результаты LabChip 2-8 °C 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат		
			% интактных (NR)	% тяжелой цепи (R)	% легкой цепи (R)
STM-PDA-0120	Определение чистоты IgG с помощью LabChip (невосстановленные и восстановленные)	A1	97,68	18,83	80,73
		A2	97,84	18,79	81,06
		A3	97,80	18,83	80,85
		A4	98,11	18,62	81,24
		A5	98,29	18,75	81,01
		A6	98,37	18,79	81,04
		A7	98,02	19,03	80,79
		A8	98,00	18,86	80,96
		A9	97,79	18,91	81,09
		A10	97,69	18,97	80,70
		B1	97,18	19,00	81,00
		B2	97,48	18,99	81,01
		B3	97,05	19,15	80,85
		B4	97,58	19,22	80,78
		B5	98,12	18,83	80,75
		B6	98,28	18,79	81,21
		B7	96,47	19,33	80,67
		B8	97,01	19,18	80,82
		B9	96,82	18,92	81,09
		B10	97,31	19,12	80,88

Фиг. 60

Результаты SEC 2-8 °C 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			Общая площадь	Высокий MW (%)	Основной пик (%)	Низкий MW (%)
STM-QCS-0195	Эксклюзионная хроматография для определения агрегации белков	A1	163,514	1,12	98,88	0,00
		A2	160,832	1,10	98,90	0,00
		A3	144,803	1,11	98,90	0,00
		A4	150,519	1,11	98,89	0,00
		A5	148,618	1,08	98,93	0,00
		A6	150,979	1,09	98,92	0,00
		A7	146,470	1,13	98,87	0,00
		A8	144,151	1,12	98,88	0,00
		A9	152,146	1,13	98,88	0,00
		A10	145,397	1,12	98,89	0,00
		B1	143,451	1,17	98,84	0,00
		B2	148,778	1,14	98,86	0,00
		B3	169,019	1,17	98,84	0,00
		B4	143,488	1,16	98,85	0,00
		B5	159,423	1,15	98,85	0,00
		B6	150,731	1,09	98,91	0,00
		B7	149,247	1,16	98,85	0,00
		B8	152,109	1,16	98,85	0,00
		B9	152,521	1,15	98,86	0,00
		B10	161,090	1,14	98,87	0,00

Фиг. 61

Результаты cIEF 2-8 °C 2 неделя:

Номер анализа			STM-QCS-0151							
Анализ			Изоэлектрическая точка с применением визуализированного анализа cIEF							
Состав	Общая интегрированная площадь	Результат								
		pI / % площади	Кислый	Второстепенные виды 1	Главные виды 1	Второстепенные виды 2	Главные виды 2	Второстепенные виды 3	Главные виды 3	Основной
A1	0,016	pI		7,07	7,26	7,33	7,43	7,47	7,61	
		% площади	0,71	4,42	43,00	2,66	28,07	2,25	18,08	0,81
A2	0,016	pI		7,07	7,25	7,34	7,42	7,48	7,61	
		% площади	0,61	4,22	42,96	2,97	28,40	1,81	18,22	0,84
A3	0,017	pI		7,07	7,26	7,33	7,43	7,47	7,61	
		% площади	0,55	4,11	43,07	2,73	27,89	1,94	18,74	0,98
A4	0,016	pI		7,07	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,51	4,08	43,36	2,86	28,38	1,84	18,36	0,64
A5	0,017	pI		7,07	7,25	7,32	7,42	7,46	7,61	
		% площади	1,05	4,78	43,51	2,85	27,72	1,94	17,68	0,48
A6	0,016	pI		7,07	7,25	7,33	7,42	7,47	7,62	
		% площади	0,68	4,17	42,94	2,92	28,29	1,91	18,27	0,82
A7	0,016	pI		7,07	7,25	7,33	7,42	7,46	7,62	
		% площади	0,87	4,38	43,11	2,57	27,71	2,44	18,27	0,66
A8	0,016	pI		7,07	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,37	4,80	42,23	2,79	27,88	1,95	18,17	0,84
A9	0,016	pI		7,07	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,61	4,05	43,09	2,98	28,23	1,68	18,53	0,85
A10	0,016	pI		7,07	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,66	4,20	43,45	2,85	27,91	1,99	18,23	0,73
B1	0,016	pI		7,07	7,26	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	0,71	4,21	43,16	2,71	27,66	2,44	18,37	0,76
B2	0,016	pI		7,07	7,25	,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,64	4,12	43,66	2,58	28,47	1,73	18,10	0,72
B3	0,016	pI		7,07	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,77	4,24	43,48	2,67	28,12	2,17	18,02	0,55
B4	0,016	pI		7,07	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,59	3,98	43,85	2,74	28,68	1,56	18,00	0,65
B5	0,016	pI		7,07	7,26	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,69	4,33	43,20	2,77	28,53	1,48	18,27	0,75
B6	0,018	pI		7,07	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,45	4,09	43,85	2,75	28,21	1,93	17,95	0,77
B7	0,018	pI		7,07	7,25	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	1,35	4,88	42,64	2,70	27,34	2,26	18,08	0,77
B8	0,018	pI		7,07	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,17	5,06	42,74	2,72	27,84	1,86	18,03	0,60
B9	0,018	pI		7,07	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	0,48	4,15	43,53	2,76	28,10	1,82	18,39	0,80
B10	0,019	pI		7,06	7,25	7,33	7,42	7,46	7,61	
		% площади	0,61	4,37	43,56	2,83	27,51	2,29	18,18	0,67

Фиг. 62

Результаты MFI 2-8°C 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			> 2 мкм до < 5 мкм	> 5 мкм до < 10 мкм	> 10 мкм до < 25 мкм	> 25 мкм
STM-PDA-0121	Анализ частиц с помощью визуализации MicroFluid (MFI)	A1	3773	879	288	30
		A2	1655	641	296	37
		A3	689	232	156	25
		A4	1209	190	94	9
		A5	3762	762	209	41
		A6	3608	706	278	53
		A7	2824	538	191	21
		A8	3758	1249	560	64
		A9	5614	1854	1111	120
		A10	4978	1673	854	149
		B1	1110	437	253	44
		B2	1038	241	80	25
		B3	646	149	44	7
		B4	1201	209	112	18
		B5	3801	770	313	41
		B6	4038	1257	718	113
		B7	3560	1235	791	156
		B8	4498	1554	905	81
		B9	4956	1592	949	190
		B10	3294	593	186	44

Фиг. 63

Анализ связывания 2-8°C 2 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
			% относительная активность
STM-QCS-0294	Эффективность ИФА для оценки CHA.7.518.1.H4(S241P)	A1	101,8
		A2	105,6
		A3	66,4
		A4	59,6
		A5	79,6
		A6	84,0
		A7	46,5
		A8	52,3
		A9	69,15
		A10	81,6
		B1	97,1
		B2	102,3
		B3	102,9
		B4	91,6
		B5	104,1
		B6	91,2
		B7	99,0
		B8	97,3
		B9	97,3
		B10	101,7

Фиг. 64

Результаты внешнего вида 2-8°C 4 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
STM-QCS-0008	Внешний вид	A1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц

Фиг. 65

Результаты A280 2-8°C 4 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (мг/мл)
STM-QCS-0252	Определение концентрации белка с помощью SoloVPE	A1	20,5
		A2	20,5
		A3	20,5
		A4	20,7
		A5	20,9
		A6	20,8
		A7	20,9
		A8	20,8
		A9	20,9
		A10	20,9
		B1	20,6
		B2	21,0
		B3	21,0
		B4	21,1
		B5	21,1
		B6	21,1
		B7	21,2
		B8	21,4
		B9	21,4
		B10	21,4

Фиг. 66

Результаты LabChip 2-8°C 4 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат		
			% интактных (NR)	% тяжелой цепи (R)	% легкой цепи (R)
STM-PDA-0120	Определение чистоты IgG с помощью LabChip (невосстановленные и восстановленные)	A1	97,08	19,02	80,63
		A2	97,09	19,46	80,30
		A3	97,21	19,32	80,50
		A4	97,21	19,25	80,55
		A5	96,53	19,11	80,59
		A6	96,93	18,99	80,75
		A7	97,34	19,04	80,85
		A8	97,53	19,09	80,91
		A9	97,11	19,20	80,35
		A10	97,22	19,03	80,50
		B1	96,83	18,91	81,06
		B2	97,16	19,03	80,97
		B3	97,07	18,94	81,06
		B4	97,02	19,04	80,96
		B5	97,29	19,26	80,74
		B6	96,76	18,93	81,07
		B7	96,48	18,81	81,19
		B8	94,68	19,01	80,98
		B9	95,37	19,11	80,89
		B10	95,48	18,99	81,01

Фиг. 67

Результаты SEC 2-8 °C 4 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			Общая площадь	Высокий MW (%)	Основной пик (%)	Низкий MW (%)
STM-QCS-0195	Эксклюзионная хроматография для определения агрегации белков	A1	161,577	1,01	99,00	0,00
		A2	173,881	0,97	99,04	0,00
		A3	151,164	1,01	99,00	0,00
		A4	164,618	0,98	99,03	0,00
		A5	158,530	0,97	99,03	0,00
		A6	161,512	0,95	99,05	0,00
		A7	158,372	1,00	99,00	0,00
		A8	152,409	0,99	99,01	0,00
		A9	158,180	0,98	99,02	0,00
		A10	160,644	0,97	99,04	0,00
		B1	150,166	1,06	98,94	0,00
		B2	163,007	0,98	99,02	0,00
		B3	188,597	1,02	98,99	0,00
		B4	153,223	0,97	99,03	0,00
		B5	168,909	0,98	99,02	0,00
		B6	163,944	0,98	99,02	0,00
		B7	158,317	0,99	99,01	0,00
		B8	157,385	1,00	99,01	0,00
		B9	160,081	0,96	99,04	0,00
		B10	163,593	0,97	99,04	0,00

Фиг. 68

Результаты cIEF 2-8 °C 4 неделя:

Номер анализа		STM-QCS-0151									
Анализ		Изоэлектрическая точка с применением визуализированного анализа cIEF									
Состав	Общая интегрированная площадь	Результат									
		pI / % площади	Кислый	Второстепенные виды 1	Второстепенные виды 4	Главные виды 1	Второстепенные виды 2	Главные виды 2	Второстепенные виды 3	Главные виды 3	Основной
A1	0,017	pI		7,07	7,10	7,26	7,33	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,65	4,10	1,39	41,69	2,75	28,12	1,52	18,26	0,54
A2	0,017	pI		7,07		7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,32	5,10		42,56	2,80	27,51	2,08	17,98	0,66
A3	0,017	pI		7,07	7,11	7,26	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,30	3,87	1,31	42,15	2,76	27,40	2,37	17,88	0,97
A4	0,018	pI		7,07	7,10	7,26	7,33	7,42	7,48	7,61	
		% площади	1,17	3,96	1,05	42,60	3,00	27,52	2,04	17,89	0,80
A5	0,018	pI		7,07	7,10	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,29	4,06	1,18	42,73	2,35	27,64	2,27	17,67	0,84
A6	0,017	pI		7,07	7,09	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,40	3,75	1,07	42,62	2,69	27,81	1,98	17,98	0,73
A7	0,018	pI		7,07	7,10	7,26	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,64	4,00	1,39	41,91	2,85	27,65	1,73	17,98	0,86
A8	0,017	pI		7,07	7,10	7,26	7,34	7,43	7,47	7,62	
		% площади	1,72	4,04	1,30	42,38	2,64	27,65	2,00	17,77	0,53
A9	0,018	pI		7,07		7,26	7,34	7,42	7,47	7,62	
		% площади	1,30	5,00		42,66	2,68	27,31	2,26	17,98	0,84
A10	0,017	pI		7,07		7,26	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,24	4,88		42,85	2,75	27,69	1,95	17,94	0,72
B1	0,016	pI		7,08	7,11	7,26	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,55	3,95	1,38	42,26	2,62	28,06	2,05	17,33	0,81
B2	0,017	pI		7,07	7,10	7,26	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,68	4,30	1,11	42,76	2,46	27,46	2,12	17,51	0,62
B3	0,017	pI		7,07	7,11	7,26	7,34	7,43	7,48	7,62	
		% площади	1,47	4,24	1,19	42,22	2,72	27,85	1,92	17,80	0,62
B4	0,018	pI		7,07	7,10	7,26	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,73	4,29	1,22	41,95	2,81	27,19	2,17	17,78	0,88
B5	0,018	pI		7,07	7,10	7,25	7,33	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,45	4,21	1,00	42,59	2,88	27,56	1,62	18,00	0,71
B6	0,017	pI		7,07	7,09	7,25	7,33	7,42	7,47	7,62	
		% площади	1,24	3,99	1,17	42,92	2,74	27,96	1,71	17,76	0,54
B7	0,019	pI		7,07	7,09	7,26	7,34	7,42	7,47	7,62	
		% площади	1,21	3,84	1,34	42,76	2,70	28,04	1,85	17,63	0,65
B8	0,018	pI		7,07	7,10	7,26	7,34	7,43	7,47	7,62	
		% площади	0,91	3,88	1,17	42,67	2,66	28,05	2,10	17,87	0,72
B9	0,020	pI		7,06	7,09	7,25	7,32	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,31	3,88	1,14	42,82	2,46	27,81	1,76	18,05	0,78
B10	0,019	pI		7,07	7,09	7,26	7,33	7,42	7,47	7,62	
		% площади	1,25	4,05	1,18	42,81	2,47	27,79	1,99	17,71	0,78

Фиг. 69

Результаты MFI 2-8 °C 4 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			> 2 мкм до < 5 мкм	> 5 мкм до < 10 мкм	> 10 мкм до < 25 мкм	> 25 мкм
STM-PDA-0121	Анализ частиц с помощью визуализации MicroFluid (MFI)	A1	7821	1549	370	12
		A2	936	341	254	16
		A3	1193	476	246	28
		A4	2264	608	309	46
		A5	5038	1790	924	109
		A6	4763	1495	807	69
		A7	3425	1324	873	170
		A8	13970	4246	5731	368
		A9	5849	1860	932	139
		A10	4190	1702	992	157
		B1	1186	415	166	25
		B2	2627	835	329	51
		B3	1630	539	297	37
		B4	1104	348	240	12
		B5	6711	2418	1325	187
		B6	6591	2391	1638	236
		B7	3638	1422	947	129
		B8	4521	1664	960	191
		B9	5645	1905	1026	211
		B10	6121	1957	1127	247

Фиг. 70

Анализ связывания 2-8 °C 4 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
			% относительная активность
STM-QCS-0294	Эффективность ИФА для оценки CHA.7.518.1.H4(S241P)	A1	95,8
		A2	87,9
		A3	98,0
		A4	72,1
		A5	80,8
		A6	71,1
		A7	63,9
		A8	61,4
		A9	99,6
		A10	114,7
		B1	89,7
		B2	94,1
		B3	92,7
		B4	99,2
		B5	102,6
		B6	110,8
		B7	92,1
		B8	97,9
		B9	98,7
		B10	106,8

Фиг. 71

Результаты внешнего вида 2-8 °C 8 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
STM-QCS-0008	Внешний вид	A1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		A10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B1	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B2	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B3	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B4	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B5	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B6	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B7	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B8	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B9	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц
		B10	Прозрачная жидкость, бесцветная, без частиц

Фиг. 72

Результаты A280 2-8°C 8 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат (мг/мл)
STM-QCS-0252	Определение концентрации белка с помощью SoloVPE	A1	20,4
		A2	20,6
		A3	20,5
		A4	20,9
		A5	21,0
		A6	21,1
		A7	20,9
		A8	20,9
		A9	20,9
		A10	21,0
		B1	20,5
		B2	20,9
		B3	20,7
		B4	20,6
		B5	21,1
		B6	21,0
		B7	21,1
		B8	21,2
		B9	21,2
		B10	21,1

Фиг. 73

Результаты LabChip 2-8°C 8 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат		
			% интактных (NR)	% тяжелой цепи (R)	% легкой цепи (R)
STM-PDA-0120	Определение чистоты IgG с помощью LabChip (невосстановленные и восстановленные)	A1	97,67	19,04	80,84
		A2	97,60	18,99	81,01
		A3	97,94	19,10	80,78
		A4	98,13	18,97	81,03
		A5	98,34	19,17	80,71
		A6	98,37	19,15	80,85
		A7	98,34	19,18	80,82
		A8	98,79	19,21	80,79
		A9	97,20	19,05	80,79
		A10	97,37	19,17	80,72
		B1	97,56	19,08	80,92
		B2	97,16	19,18	80,82
		B3	97,13	19,03	80,97
		B4	97,11	19,11	80,79
		B5	97,60	18,92	81,07
		B6	97,08	19,13	80,87
		B7	96,03	18,81	81,19
		B8	96,21	19,06	80,94
		B9	96,53	19,18	80,82
		B10	96,66	18,82	81,16

Фиг. 74

Результаты SEC 2-8 °C 8 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			Общая площадь	Высокий MW (%)	Основной пик (%)	Низкий MW (%)
STM-QCS-0195	Эксклюзионная хроматография для определения агрегации белков	A1	164,205	1,15	97,85	1,01
		A2	170,461	1,12	97,84	1,05
		A3	145,384	1,11	97,88	1,02
		A4	162,190	1,13	97,85	1,02
		A5	158,755	1,14	97,80	1,07
		A6	158,717	1,10	97,87	1,04
		A7	157,077	1,12	97,82	1,06
		A8	150,759	1,11	97,83	1,07
		A9	165,076	1,13	97,81	1,07
		A10	154,389	1,10	97,83	1,08
		B1	148,977	1,16	97,85	0,99
		B2	157,885	1,14	97,84	1,02
		B3	180,085	1,22	97,77	1,03
		B4	151,015	1,12	97,88	1,01
		B5	170,046	1,15	97,86	1,00
		B6	159,224	1,15	97,80	1,05
		B7	155,754	1,17	97,82	1,01
		B8	159,873	1,21	97,76	1,05
		B9	162,705	1,16	97,81	1,04
		B10	168,240	1,10	97,91	1,00

Фиг. 75

Результаты cIEF 2-8 °C 8 неделя:

Номер анализа		STM-QCS-0151									
Анализ		Изоэлектрическая точка с применением визуализированного анализа cIEF									
Состав	Общая интегрированная площадь	Результат									
		pI / % площади	Кислый	Второстепенные виды 1	Второстепенные виды 4	Главные виды 1	Второстепенные виды 2	Главные виды 2	Второстепенные виды 3	Главные виды 3	Основной
A1	0,017	pI		7,05	7,08	7,22	7,31	7,42	7,48	7,62	
		% площади	2,01	4,41	1,99	40,90	2,63	26,96	2,06	18,78	0,28
A2	0,017	pI		7,05	7,08	7,23	7,31	7,42	7,48	7,62	
		% площади	1,62	3,93	1,55	41,51	2,48	26,90	2,48	19,26	0,29
A3	0,017	pI		7,06	7,08	7,23	7,31	7,42	7,48	7,62	
		% площади	2,13	4,31	2,11	40,60	2,61	27,00	2,24	18,68	0,34
A4	0,018	pI		7,04	7,07	7,22	7,31	7,42	7,47	7,62	
		% площади	1,96	4,42	1,75	40,77	2,52	26,58	2,86	18,84	0,30
A5	0,017	pI		7,06	7,08	7,23	7,32	7,43	7,48	7,62	
		% площади	2,33	4,28	2,19	40,99	2,54	26,58	2,13	18,82	0,16
A6	0,017	pI		7,05	7,07	7,22	7,31	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,72	4,31	1,77	41,23	2,43	26,88	2,54	18,88	0,26
A7	0,017	pI		7,05	7,08	7,22	7,31	7,42	7,48	7,62	
		% площади	2,15	4,24	2,07	40,95	2,70	27,03	2,38	18,28	0,22
A8	0,017	pI		7,05	7,08	7,22	7,31	7,42	7,48	7,61	
		% площади	2,35	4,33	2,19	40,81	2,62	26,81	2,49	18,23	0,19
A9	0,017	pI		7,04	7,08	7,22	7,31	7,42	7,48	7,61	
		% площади	1,77	4,26	1,62	41,26	2,49	26,86	2,46	19,09	0,21
A10	0,018	pI		7,04	7,08	7,22	7,31	7,42	7,47	7,61	
		% площади	1,85	4,25	1,81	41,24	2,53	26,95	2,25	18,93	0,20
B1	0,018	pI		7,05	7,07	7,22	7,31	7,42	7,48	7,62	
		% площади	2,96	4,86	2,71	39,85	2,83	26,11	2,35	18,13	0,27
B2	0,017	pI		7,05	7,08	7,22	7,31	7,42	7,48	7,61	
		% площади	1,98	4,35	2,02	40,79	2,38	26,99	2,19	19,09	0,24
B3	0,017	pI		7,05	7,07	7,22	7,31	7,42	7,48	7,61	
		% площади	2,22	3,90	2,49	40,81	2,47	27,02	2,49	18,37	0,24
B4	0,017	pI		7,04	7,07	7,22	7,31	7,42	7,48	7,61	
		% площади	2,15	4,29	2,12	41,05	2,34	26,99	2,13	18,72	0,23
B5	0,017	pI		7,05	7,07	7,22	7,31	7,42	7,48	7,61	
		% площади	1,63	3,98	1,77	41,77	2,24	27,23	2,43	18,90	0,08
B6	0,017	pI		7,05	7,07	7,22	7,31	7,42	7,48	7,62	
		% площади	2,40	4,23	2,35	40,68	2,58	26,64	2,25	18,61	0,27
B7	0,016	pI		7,05	7,07	7,23	7,31	7,43	7,49	7,62	
		% площади	1,36	3,49	2,07	41,63	2,41	27,43	2,26	19,08	0,29
B8	0,017	pI		7,05	7,07	7,22	7,31	7,42	7,48	7,62	
		% площади	2,14	4,04	2,29	40,98	2,52	26,96	1,88	18,98	0,22
B9	0,016	pI		7,05	7,08	7,22	7,31	7,42	7,48	7,61	
		% площади	0,76	3,87	1,26	42,10	2,16	27,77	2,35	19,38	0,37
B10	0,018	pI		7,05	7,08	7,22	7,31	7,42	7,48	7,61	
		% площади	2,49	4,80	2,02	40,62	2,51	26,52	2,34	18,47	0,25

Фиг. 76

Результаты MFI 2-8°C 8 неделя:

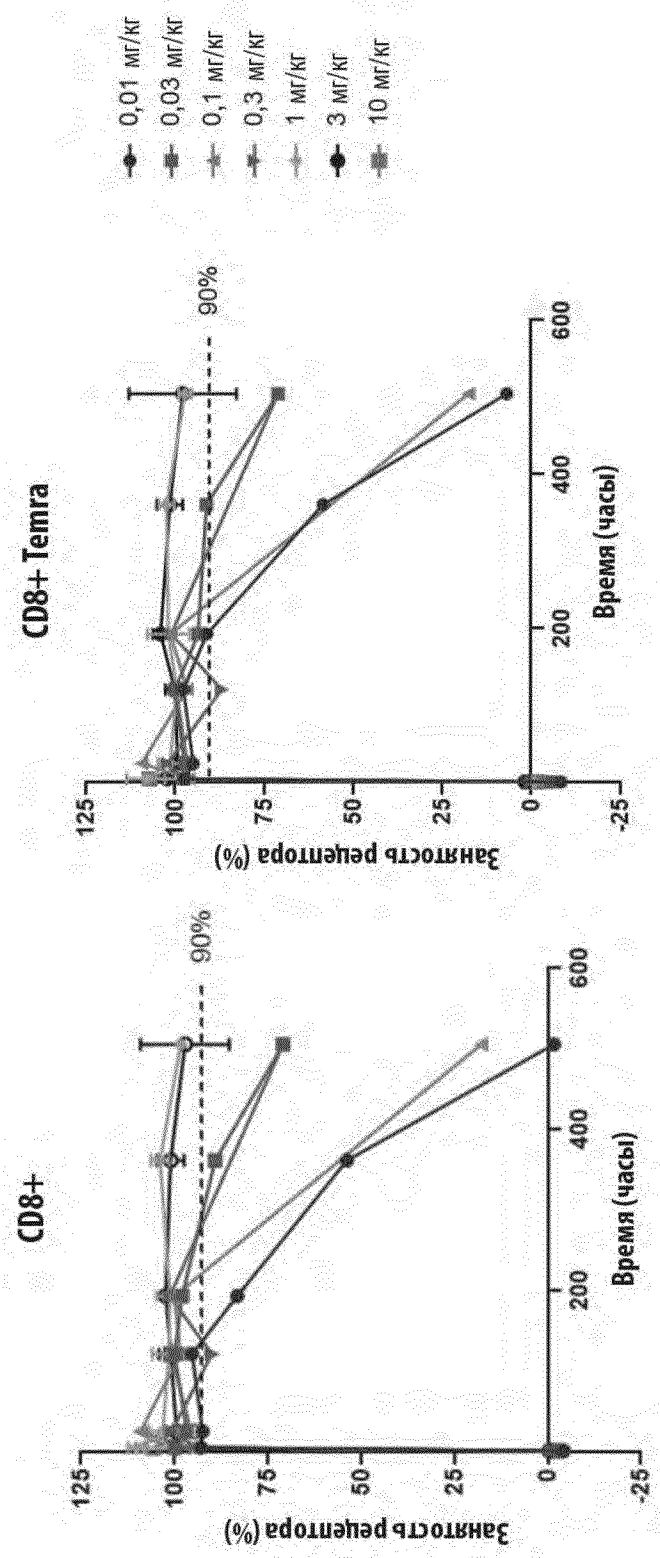
Номер анализа	Анализ	Состав	Результат			
			> 2 мкм до < 5 мкм	> 5 мкм до < 10 мкм	> 10 мкм до < 25 мкм	> 25 мкм
STM-PDA-0121	Анализ частиц с помощью визуализации MicroFluid (MFI)	A1	8725	2362	1341	216
		A2	4206	1773	1321	276
		A3	4496	1998	1344	177
		A4	4582	2019	1317	235
		A5	3691	1736	1140	217
		A6	5397	2097	1313	253
		A7	2960	1098	784	166
		A8	3231	943	668	158
		A9	5884	2544	1635	236
		A10	5285	2507	1678	371
		B1	3354	1543	845	83
		B2	4084	1527	936	162
		B3	3211	1497	958	99
		B4	3811	1519	1030	155
		B5	3975	1149	651	125
		B6	3006	890	543	109
		B7	6502	1699	1000	234
		B8	2855	1339	839	226
		B9	2718	1015	644	226
		B10	6988	1793	805	174

Фиг. 77

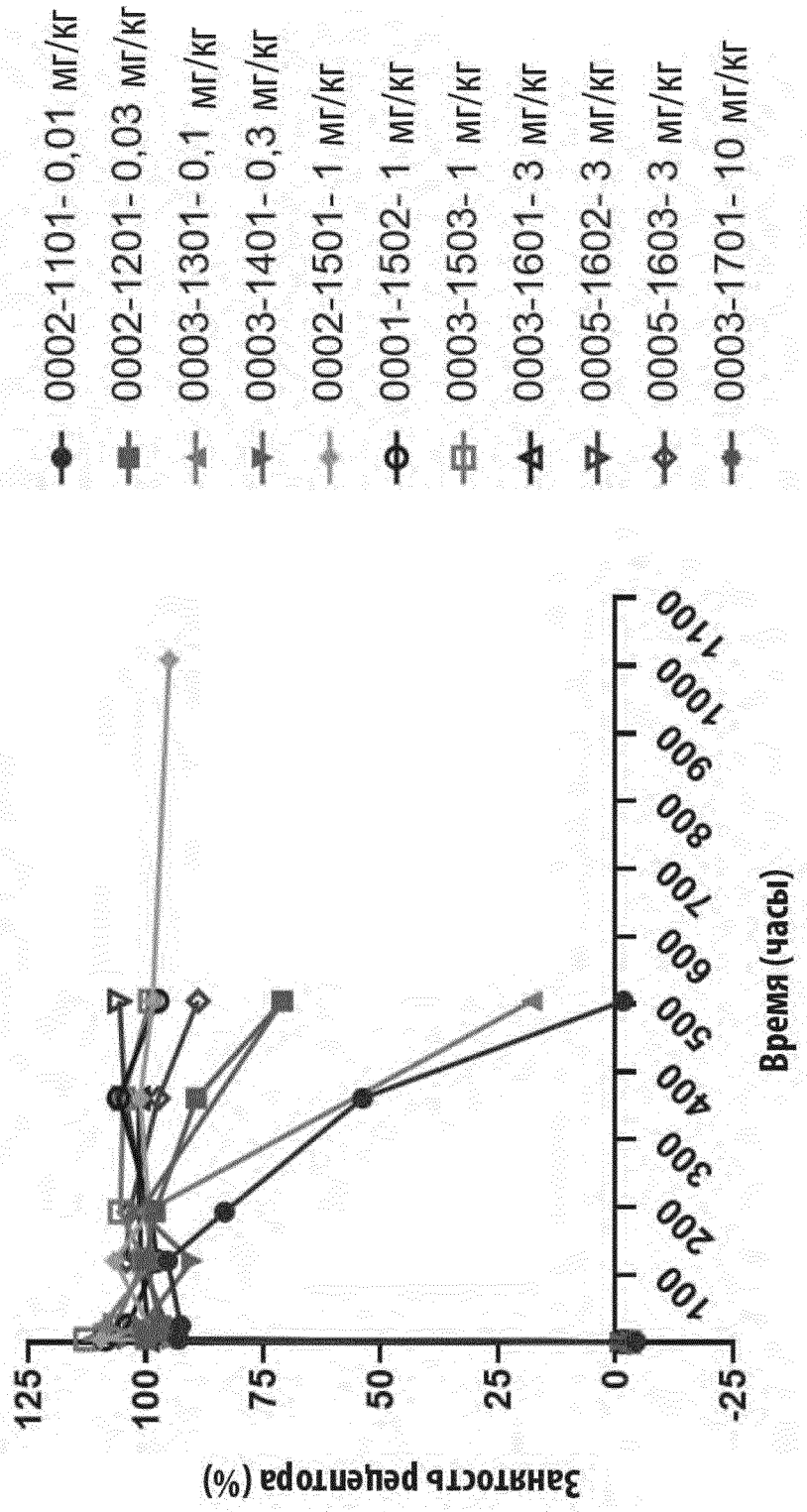
Анализ связывания 2-8 °C 8 неделя:

Номер анализа	Анализ	Состав	Результат
			% относительная активность
STM-QCS-0294	Эффективность ИФА для оценки CHA.7.518.1.H4(S241P)	A1	71,6
		A2	82,6
		A3	51,5
		A4	92,2
		A5	75,2
		A6	107,4
		A7	106,9
		A8	111,4
		A9	93,4
		A10	104,7
		B1	93,0
		B2	89,5
		B3	107,7
		B4	90,0
		B5	87,2
		B6	90,2
		B7	95,3
		B8	107,6
		B9	109,8
		B10	84,6

Фиг. 78

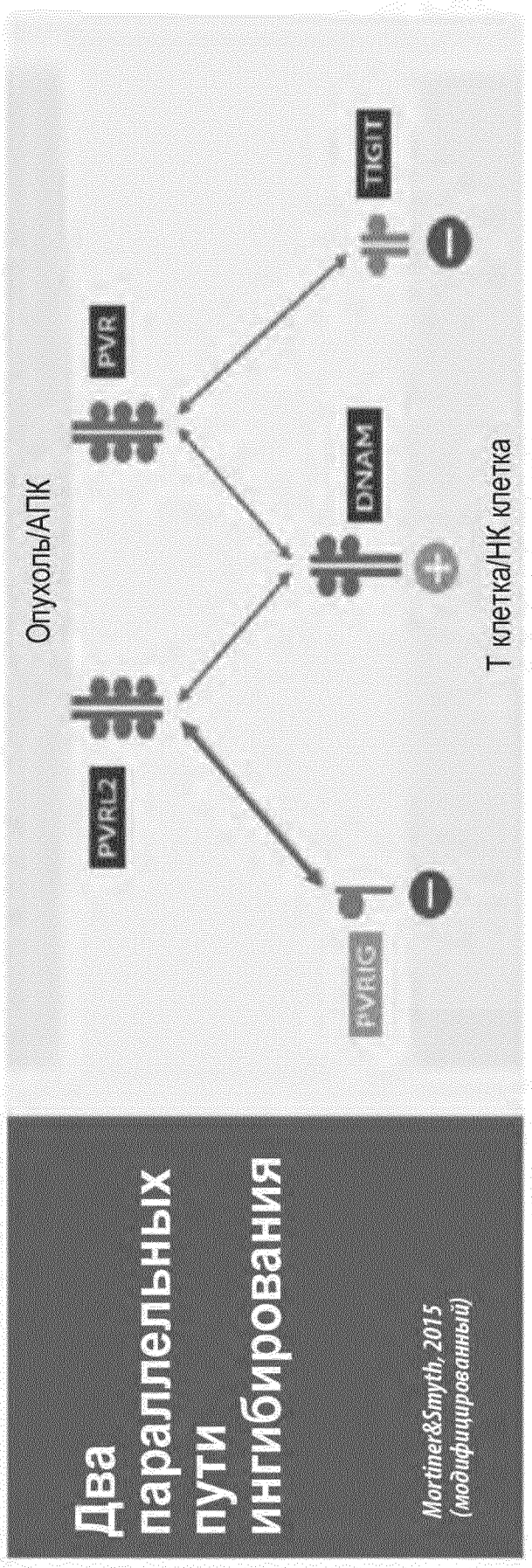

0,01 мг/кг
0,03 мг/кг
0,1 мг/кг
0,3 мг/кг
1 мг/кг
3 мг/кг
10 мг/кг
CD8+ Temra
CD8+
90%
Занятость рецептора (%)
Время (часы)
125
100
75
50
25
0
-25
200
400
600

Фиг. 79


CD8+ Т клетки- все циклы
Занятость рецептора (%)
125
100
75
50
25
0
-25
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
1100
Время (часы)
0002-1101- 0,01 мг/кг
0002-1201- 0,03 мг/кг
0003-1301- 0,1 мг/кг
0003-1401- 0,3 мг/кг
0002-1501- 1 мг/кг
0001-1502- 1 мг/кг
0003-1503- 1 мг/кг
0003-1601- 3 мг/кг
0005-1602- 3 мг/кг
0005-1603- 3 мг/кг
0003-1701- 10 мг/кг

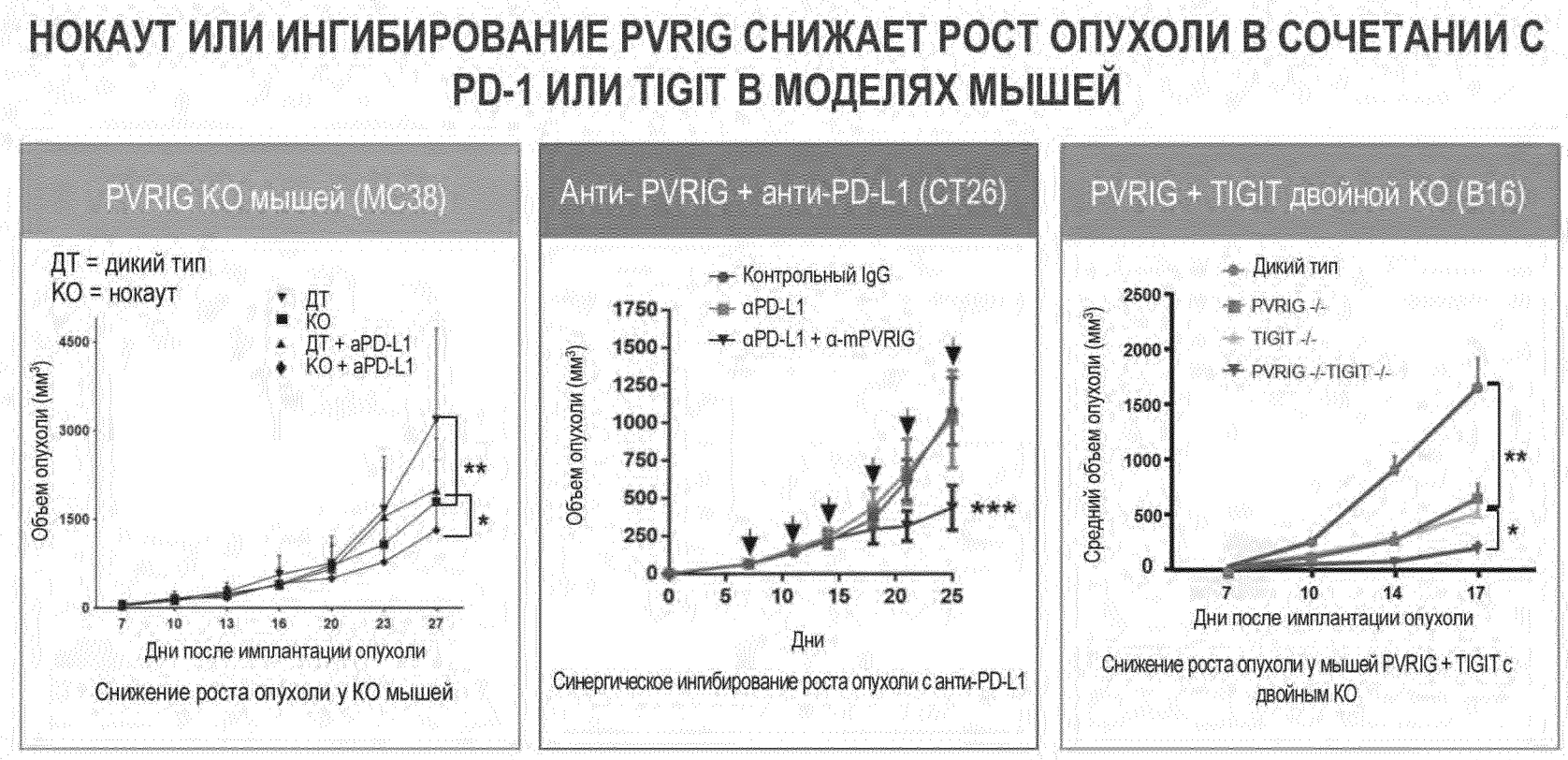
Фиг. 80

PVRIG представляет собой новую контрольную точку в TIGID/DNAM-1 оси



Фиг. 81

ИНГИБИРОВАНИЕ PVRIG СНИЖАЕТ РОСТ ОПУХОЛИ В МОДЕЛЯХ РАКА У МЫШЕЙ



Фиг. 82

ФАЗА 1 (идентификатор: NCT03667716)

Группа A

Монотерапия Увеличение дозы	**Монотерапия** Увеличение когорты (20 пациентов; прогрессирование на SOC)
Все желающие (прогрессирование на SOC)	NSCLC, яичникм, молочная железа, эндометрий, колоректальный

Группа B

Двойная комбинация Возрастающие дозы CHA.7.510.1.H4(S241P) с фиксированной дозой ниволумаба (до 20 пациентов)
Все желающие (прогрессирование на SOC)

Цели исследования

- Безопасность и переносимость
- PK/PD
- Клиническая активность – CHA.7.518.1.H4(S241P) монотерапия и в комбинации

Оценка реакции

CT отображение Q6 или Q8 недель в соответствии с графиком приема исследуемых препаратов

Ответы на оценку исследователя — RECIST v1.1

Фиг. 83

Характеристики пациентов – исходные характеристики

	Доза CHA.7.518.1.H4(S241P) Монотерапия (мг/кг) в/в Q3 недели							Общее
	0,01	0,03	0,1	0,3	1	3	10	
Возраст								
≤65 лет	0	1	1	1	3	1	3	10
>65 лет	1	0	0	0	0	2	0	3
Статус производительности ECOG								
0				1	2	3	2	8
1	1	1	1		1		1	5
Пол								
Женский	1	1	1	0	1	2	2	8
Мужской				1	2	1	1	5
Стадия заболевания при включении в исследование	В/в	В/в	В/в	В/в	В/в*	В/в	В/в	В/в
Тип опухоли при включении в исследование								
Колоректальный рак	-	-	1	-	2	1	2	6
Немелкоклеточный рак легкого	1	-	-	-	-	-	-	1
Рак поджелудочной железы	-	-	-	1	-	-	-	1
Рак яичников	-	-	-	-	-	1	-	1
Адено-кистозный рак	-	1	-	-	-	-	-	1
Рак неизвестного происхождения	-	-	-	-	1	-	-	1
Рак желчного пузыря	-	-	-	-	-	-	1	1
Плевральная мезотелиома	-	-	-	-	-	1	-	1

*включает пациента с карциномой неизвестного первичного

Фиг. 84

Характеристики пациентов – расположение лечения

	Доза CHA.7.518.1.H4(S241P) Монотерапия (мг/кг) в/в Q3 недели							Общее
	0,01	0,03	0,1	0,3	1	3	10	
Количество пациентов, включенных и пролеченных	1	1	1	1	3	3	3	13
Дозолимитирующая токсичность	0	0	0	0	0	0	0	0
Среднее количество циклов COM701	2	18*	5*	1	2	7	8	5
Среднее количество предшествующих терапий (режим)	7 (5)	2 (2)	7 (3)	3 (1)	10 (3)	7 (5)	6 (2)	7 (3)
Причина прекращения исследуемого лечения								
Побочное явление	-	-	-	-	-	-	-	0
Прогрессирующее заболевание согласно RECIST v1.1	1	0	1	0	2	1	-	5
На усмотрение исследователя/клиническое прогрессирование/ухудшение	-	-	-	1	-	2	1	4
Продолжение лечения	-	1	-	-	-	0	1	2

Пациент с внутрисубъектным повышением дозы

Фиг. 85

Случаи побочных явлений, возникших при лечении (≥ 2 пациентов)

	CHA.7.518.1.H4(S241P) Монотерапия (мг/кг) в/в Q3 недели			
Нежелательные явления, возникшие при лечении (TEAE, PT), n (%)	Степень 1-2	Степень 3	Степень 4	Степень 5
Усталость	6 (46)	-	-	-
Тошнота	4 (31)	-	-	-
Рвота	3 (23)	1 (8)	-	-
Прогрессирование заболевания/прогрессирование злокачественного новообразования	3 (23)	-	-	3 (23)
Беспокойство	3 (23)	-	-	-
Вздутие живота	2 (15)	-	-	-
Боль в животе	2 (15)	1 (8)	-	-
Запор	2 (15)	-	-	-
Кашель	2 (15)	-	-	-
Одышка	2 (15)	1 (8)	-	-
Лихорадка	2 (15)	-	-	-
Гипотония	2 (15)	-	-	-
Стоматит, воспаление слизистой	2 (15)	-	-	-
Сыпь	2 (15)	-	-	-

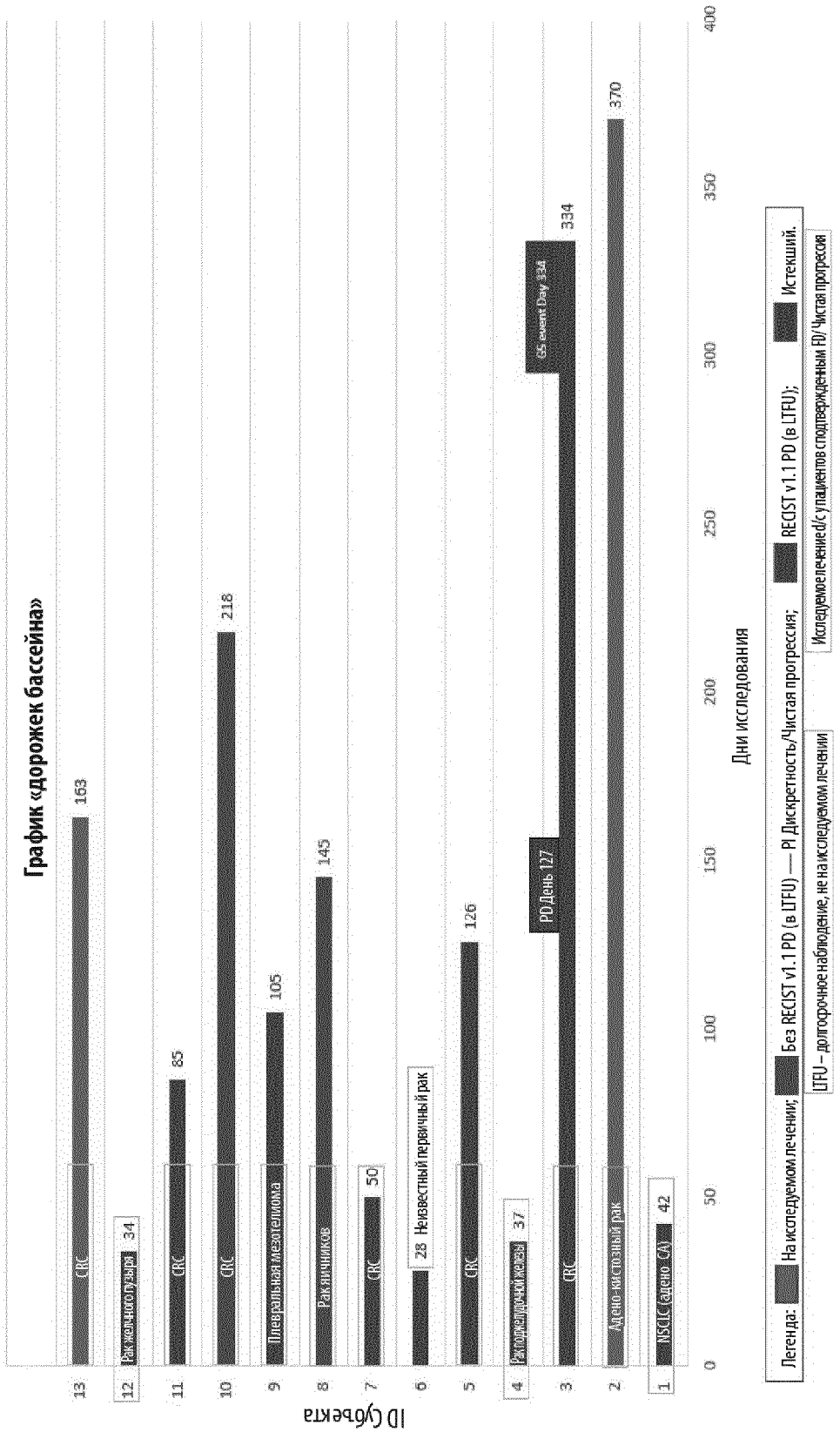
Фиг. 86

Случаи серьезных побочных явлений, возникших при лечении (≥ 2 пациентов)

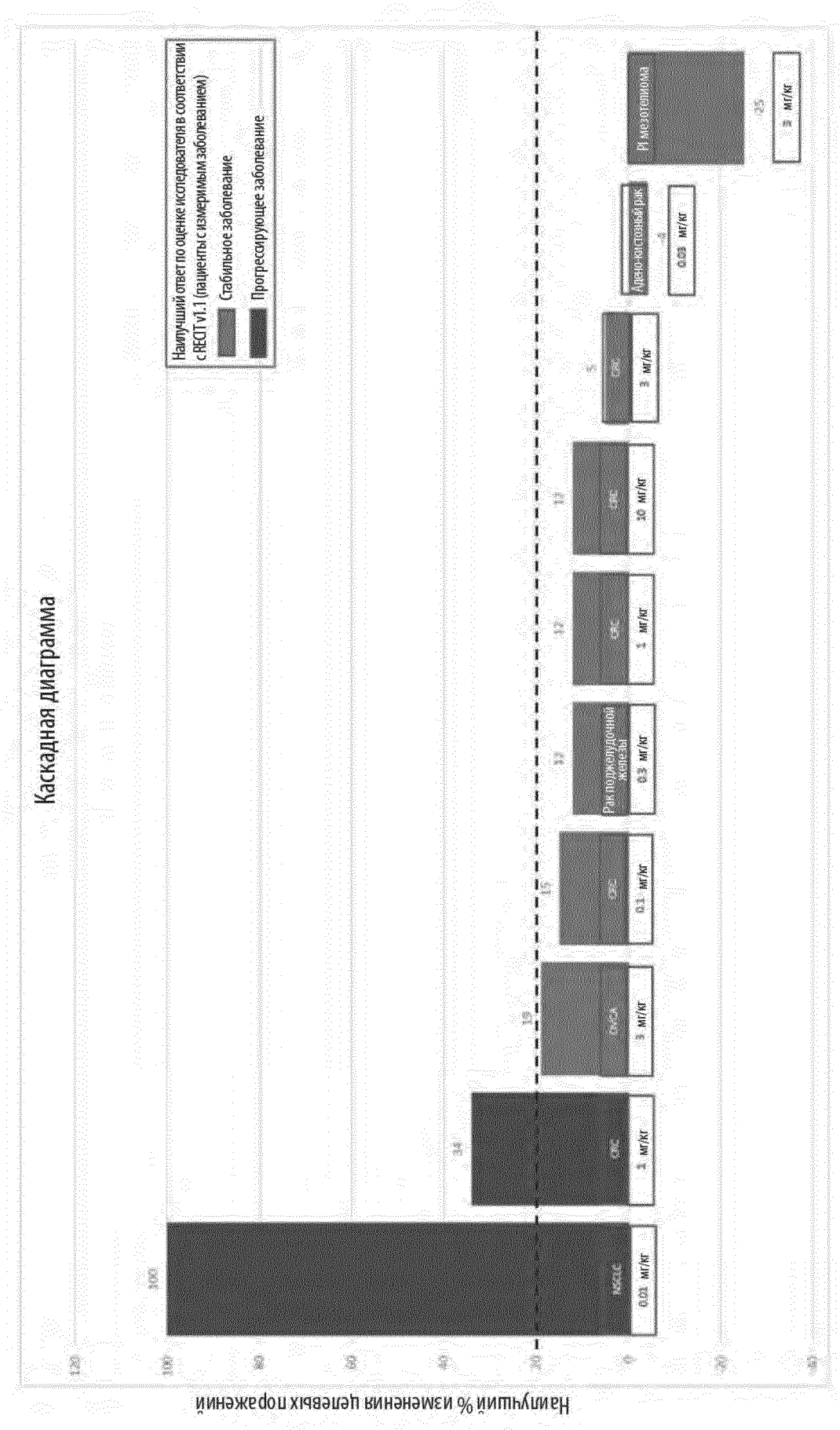
	CHA.7.518.1.H4(S241P) Монотерапия (мг/кг) в/в Q3 недели	Степень	Связь с CHA.7.518.1.H4(S241P)	Связь с заболеванием
	Любая степень N (%)			
Пациенты с любым серьезным побочным явлением (по PT)	5 (38)	-	Не связано (3/5 пациента)	Связано у 4/5 пациентов
Прогрессирование злокачественного новообразования, прогрессирование заболевания	3 (23)	5	Не связано	Связано
Рвота	1 (8)	3	Не связано	Связано
Боль в животе	1 (8)	3	Не связано	Связано
Лихорадка	1 (8)	1	Возможно связано	Не связано
Мерцательная аритмия	1 (8)	3	Вряд ли связано	Связано
Билирубин крови повышен	1 (8)	3	Не связано	Связано

Оценка причинно-следственной связи на исследователя

Фиг. 87


График «дорожек бассейна»
ID Субъекта
Дни исследования
0
50
100
150
200
250
300
350
400
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
CRC
163
Рак желчного пузыря
34
CRC
85
CRC
218
Плевральная мезотелиома
105
Рак яичников
145
CRC
50
28 Неизвестный первичный рак
CRC
126
Рак поджелудочной железы
37
CRC
PD День 127
OS event Day 334
334
Аденокистозный рак
370
NSCLC (аденокарцинома)
42
Легенда:
На исследуемом лечении;
Без RECIST v1.1 PD (в LTFU) — PI Дискретность/Чистая прогрессия;
RECIST v1.1 PD (в LTFU);
Истекший.
LTFU – долгосрочное наблюдение, не на исследуемом лечении
Исследуемое лечение d/c у пациентов с подтвержденным PD/ Чистая прогрессия

Фиг. 88


Каскадная диаграмма
Наилучший ответ по оценке исследователя в соответствии с RECIST v1.1 (пациенты с измеримым заболеванием)
Стабильное заболевание
Прогрессирующее заболевание
Наилучший % изменения целевых поражений
0.01 мг/кг
3 мг/кг
0.1 мг/кг
0.3 мг/кг
1 мг/кг
10 мг/кг
3 мг/кг
0.03 мг/кг
3 мг/кг
Рак поджелудочной железы
Рак молочной железы
Рак яичников
Рак легких
Рак мезотелиома
Рак головы и шеи
Рак толстой кишки
Рак желудка
Рак пищевода
Рак мочевого пузыря
Рак почки
Рак печени
Рак костей
Рак кожи
Рак щитовидной железы
Рак надпочечников
Рак предстательной железы
Рак матки
Рак шейки матки
Рак яичек
Рак головного мозга
Рак поджелудочной железы
Рак молочной железы
Рак яичников
Рак легких
Рак мезотелиома
Рак головы и шеи
Рак толстой кишки
Рак желудка
Рак пищевода
Рак мочевого пузыря
Рак почки
Рак печени
Рак костей
Рак кожи
Рак щитовидной железы
Рак надпочечников
Рак предстательной железы
Рак матки
Рак шейки матки
Рак яичек
Рак головного мозга

Фиг. 89

Пациенты со стабильным заболеванием – зависимость доза-реакция

ID СУБЪЕКТА	COM701 доза	Лучший ответ на лечение в ходе исследования	Подтвержденное стабильное заболевание (да/нет)	Тип опухоли	Количество дней исследуемого лечения до PD или смерти
2	0,03 мг/кг	Стабильное заболевание	Да	Адено-кистозный рак	N/A (продолжается лечение в рамках исследования)
3	0,1 мг/кг	Стабильное заболевание	Да	CRC*‡	PD-день 127, (Смерть на день 334)
4	0,3 мг/кг	Стабильное заболевание	Нет	Рак поджелудочной железы*‡	37 (смерть)
5	1 мг/кг	Стабильное заболевание	Да	CRC*	126 (в LTFU)
8	3 мг/кг	Стабильное заболевание	Нет	Рак яичников (до применения пембролизумаба)	145 (в LTFU)
9	3 мг/кг	Стабильное заболевание	Нет	Мезотелиома плевры (до применения дурвалумаба)	105 (в LTFU)
10	3 мг/кг	Стабильное заболевание	Да	CRC* (MS-S пост-дата- кат-дата)	218 (в LTFU)
11	10 мг/кг	Стабильное заболевание	Нет	CRC*‡	85 (в LTFU)
13	10 мг/кг	Стабильное заболевание	Да	CRC*‡	MS-S: стабильный статус микросателлита; Статус мутации KRAS

*MS-S: стабильный статус микросателлитов; Статус мутации KRAs‡

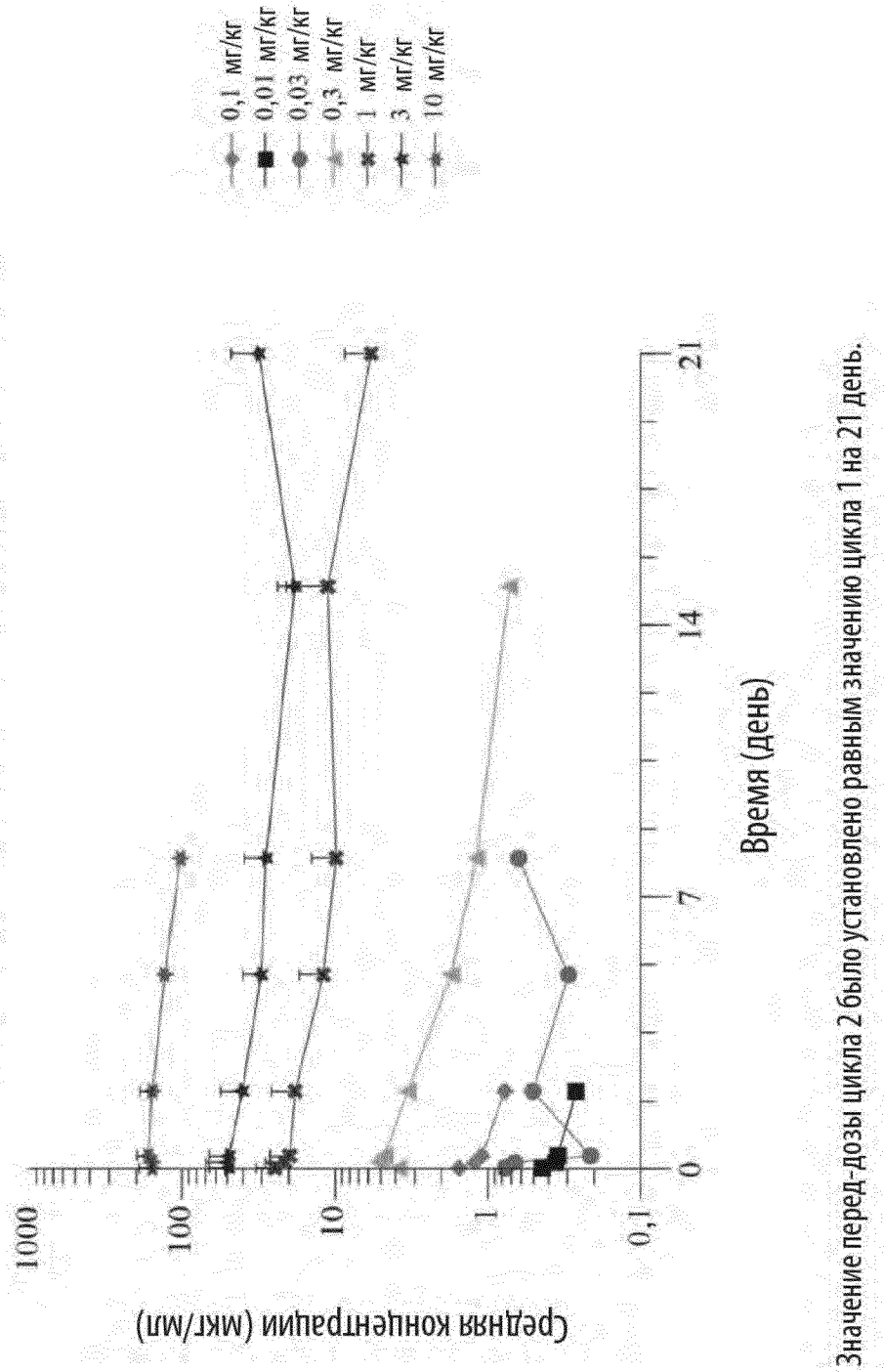
Фиг. 90

Наилучший ответ на лечение во времени у пациентов с резистентным к предшествующему лечению заболеванием

ID Субъекта	Тип опухоли	Наилучший ответ на последнюю предшествующую терапию перед включением в исследование	Наилучший временной ответ на исследуемое лечение CHA.7.518.1.H4(S241P)	Подтвержденное SD (Да/Нет)
1	NSCLC	PD	PD	Нет
3	CRC	PD	SD	Да
4	Рак поджелудочной железы	PD	SD	Нет
6	Карцинома неизвестного первичного происхождения	PD	PD	Нет
8	OVCA	PD	SD	Нет
11	CRC	PD	SD	Нет
12	Рак желчного пузыря	PD	Не достигнута оценка 1-й временной точки визуализации	Нет
13	CRC	PD	SD	Да

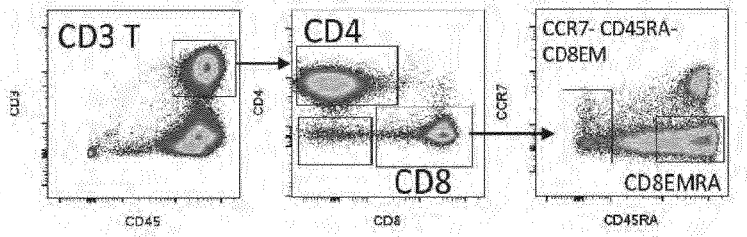
Лучший временной ответ SD у 5/8 пациентов, у которых был ответ PD на предшествующее лечение (рефрактерное заболевание до лечения)

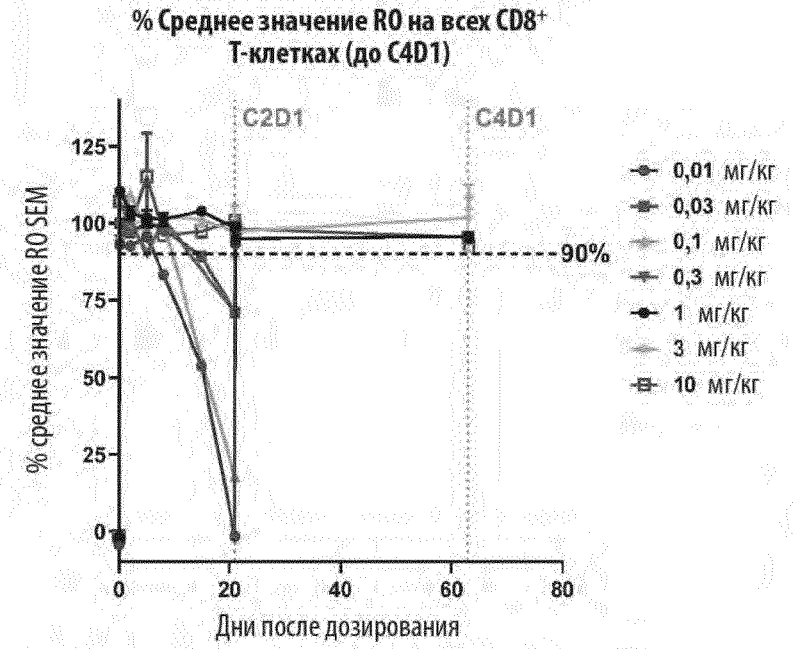
Фиг. 91


Данные профиля зависимости концентрации от времени
0,1 мг/кг
0,01 мг/кг
0,03 мг/кг
0,3 мг/кг
1 мг/кг
3 мг/кг
10 мг/кг
Средняя концентрация (мкг/мл)
1000
100
10
1
0,1
0
7
14
21
Время (день)
Значение перед-дозы цикла 2 было установлено равным значению цикла 1 на 21 день.

Фиг. 92







- >90% RO при ≥1 мг/кг наблюдается для общего количества CD3+ Т-клеток и CD8+ T_{EMRA}

Фиг. 93

ИСХОДНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТА

Параметр	Группа A (CHA.7.518.1.H4(S241P) монотерапия) N=16	Группа B (CHA.7.518.1.H4(S241P) + ниволумаб) N=12
Пол, женский (n)	9	9
Возраст ≤ 65 лет (n)	13	7
Медиана предшествующих терапий (диапазон)	6 (2, 15)	4 (2, 12)
ECOG (0, 1) 0	8	3
Тип рака на момент начала исследования (n)	CRC (6), PDAC (2), яичник/PPSC (2), NSCLC (1), аденокистозная карцинома (1), меланома (1), мезотелиома (1), CUP (1), карцинома желчного пузыря (1)	Эндометриальный (3), CRC (2), NSCLC (2), нейроэндокринный, легочный (1), анальный SCC (1), RCC (1), мезотелиома (1), цервикальный (1)

DLT оцениваемый набор

CRC – колоректальный рак; NSCLC – немелкоклеточный рак легкого; PPSC – первичный перитонеальный серозный рак; PDAC – аденокарцинома протоков поджелудочной железы; CUP – карцинома неизвестного происхождения; SCC – плоскоклеточный рак; RCC – почечно-клеточная карцинома

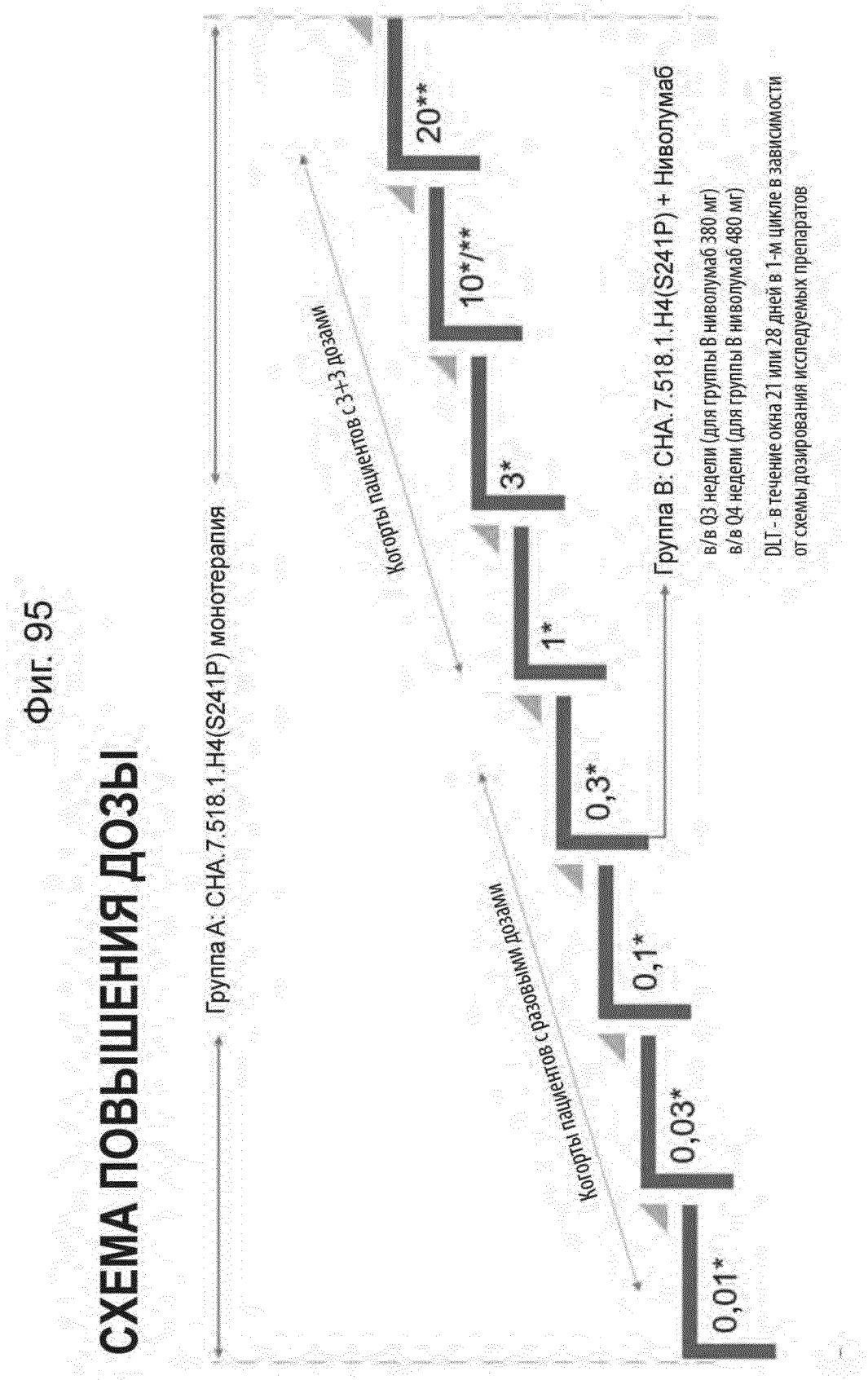
Фиг. 94

ОПИСАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ

Параметр	Группа A (CHA.7.518.1.H4(S241P) монотерапия) N=16	Группа B (CHA.7.518.1.H4(S241P) + ниволумаб) N=12
Количество DLT	0	0
Количество пациентов, продолжающих получать исследуемое лечение	2	6
Количество пациентов, получавших лечение по схеме в/в Q4 недели (доза) Количество пациентов, продолжающих лечение	3 (20 мг/кг) 2	3 (10 мг/кг + ниволумаб 480 мг) 2
Причины прекращения исследуемого лечения (n)		
* PD на RECIST v1.1	10	5
* Решение врача	2	0
* Клиническое прогрессирование/ухудшение	2	1

Оцениваемый набор DLT

Фиг. 95


СХЕМА ПОВЫШЕНИЯ ДОЗЫ
Группа A: CHA.7.518.1.H4(S241P) монотерапия
Когорты пациентов с разовыми дозами
Когорты пациентов с 3+3 дозами
0,01*
0,03*
0,1*
0,3*
1*
3*
10*/**
20**
Группа B: CHA.7.518.1.H4(S241P) + Ниволумаб
в/в Q3 недели (для группы B ниволумаб 380 мг)
в/в Q4 недели (для группы B ниволумаб 480 мг)
DLT - в течение окна 21 или 28 дней в 1-м цикле в зависимости
от схемы дозирования исследуемых препаратов

Фиг. 96

ОПИСАНИЕ ПОБОЧНЫХ ЯВЛЕНИЙ – НАБОР ДЛЯ АНАЛИЗА БЕЗОПАСНОСТИ

Параметр	Группа A	Группа B
Увеличение дозы (все пациенты)	N= 18 n (%)	N=13 n (%)
Любое TEAE (n, %)	17 (95)	13 (100)
≤G2	10 (56)	7 (54)
G3	6 (33)	5 (38)
G4	-	-
Степень 5	1* (6)	1** (8)
НЯ, приведшее к прекращению исследуемого лечения	5 (28)	-
Любое СНЯ (n, %)	7 (39)	5 (39)
≤G2	1 (6)	1 (8)
G3	5 (27)	3 (23)
G4	-	-
Степень 5	1* (6)	1** (8)
НЯ, приведшее к прекращению исследуемого лечения	5 (28)	-

Набор для анализа безопасности – все субъекты, получившие ≥1 дозы любого из исследуемых препаратов
НЯ/СНЯ, приведшие к прекращению исследуемого лечения, были **** связаны с заболеванием по оценке исследователя
* Остановка сердца
** Прогрессирующее заболевание

Фиг. 97

ОПИСАНИЕ СЕРЬЕЗНЫХ ПОБОЧНЫХ ЯВЛЕНИЙ, ПРИВЕДШИХ К ПРЕКРАЩЕНИЮ ИССЛЕДУЕМОГО ЛЕЧЕНИЯ

ID субъекта (Группа)	Тип опухоли	Побочное явление	Связанность (по оценке следователя)
801 (A)	Рак поджелудочной железы	Остановка сердца (G5)	Связано с заболеванием
4 (A)	Рак поджелудочной железы	Рвота (G3)	Связано с заболеванием
13 (A)	CRC	Легочная эмболия, ухудшение асцита (оба G3)	Связано с заболеванием
10 (A)	CRC	Ухудшение мерцательной аритмии (G3)	Связано с заболеванием
12 (A)	Рак желчного пузыря	Прогрессирующее заболевание, задержка мочи (G1), повышение билирубина в крови (G2), диарея (G3)	Связано с заболеванием

Набор для анализа безопасности – все субъекты, получившие ≥1 дозы любой исследуемой дозы

Фиг. 98

Случаи побочных явлений, возникших при лечении (TEAE) у ≥ 3 пациентов - монотерапия

Предпочтительный термин	Степень 1/2 n (%)	Степень 3/4/5* n (%)	Все степени n (%)
Любое TEAE	10 (56)	7 (39)	17 (95)
Усталость	7 (39)	-	7 (39)
Тошнота	5 (28)	-	5 (28)
Рвота	4 (22)	-	4 (22)
Диарея	3 (17)	1 (5)	4 (22)
Беспокойство	3 (17)	1 (5)	4 (22)
Одышка	3 (17)	1 (5)	4 (22)
Боль в животе	2 (11)	1 (5)	3 (16)
Лихорадка	3 (17)	-	3 (17)

Набор для анализа безопасности – все субъекты, получившие ≥1 дозы любой исследуемой дозы

Нет событий 4 группы. 1 G5 ПЯ (остановка сердца) было зарегистрировано в любом TEAE
Остановка сердца, не связанная с исследуемым препаратом, связанная с прогрессированием заболевания по оценке исследователя.

Фиг. 99

ЧАСТОТА TAEAE У ≥ 3 ПАЦИЕНТОВ – КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ

Предпочтительный термин	Степень 1/2 n (%)	Степень 3/4/5* n (%)	Все степени n (%)
Любое TEAE	7 (54)	6 (46)	13 (100)
Усталость	5 (39)	-	5 (39)
Анемия	3 (23)	1 (7)	4 (31)
Запор	3 (23)	-	3 (23)
Тошнота	2 (15)	1 (8)	3 (23)
Отек периферический	3 (23)	-	3 (23)

Набор для анализа безопасности – все субъекты, получившие ≥1 дозы любой исследуемой дозы

Нет событий 4 группы. 1 G5 ПЯ (остановка сердца) было зарегистрировано в любом TEAE
Остановка сердца, не связанная с исследуемым препаратом, связанная с прогрессированием заболевания по оценке исследователя.

Фиг. 100

ЧАСТОТА СЕРЬЕЗНЫХ TAEAE У ВСЕХ ПАЦИЕНТОВ – МОНОТЕРАПИЯ (N = 18)

Предпочтительный термин	Степень 1/2 n (%)	Степень 3/4/5# n (%)	Все степени n (%)
Любое серьезное TEAE	1 (6)	6 (33)	7 (39)
Асцит*	-	1 (11)	1 (11)
Боль в животе *	-	1 (6)	1 (6)
Мерцательная аритмия*	-	1 (6)	1 (6)
Билирубин крови повышен*	1 (6)	-	1 (6)
Остановка сердца*	-	1 (6)	1 (6)
Легочная эмболия*+	-	1 (6)	1 (6)
Лихорадка *	1 (6)	-	1 (6)
Сепсис*	-	1 (6)	1 (6)
Рвота*	-	1 (6)	1 (6)

Набор для анализа безопасности – все субъекты, получившие ≥1 дозы любой исследуемой дозы
*Считается связанным с заболеванием по оценке следователя
+Предполагаемая возможность, связанная с COM701 по оценке следователя

*1 случай остановки сердца G5 — считается связанным с заболеванием по оценке исследователя; Нет событий G4

*Считается связанным с заболеванием по оценке следователя
+Предполагаемая возможность, связанная с CHA.7.518.1.H4(S241P) по оценке следователя

*1 случай остановки сердца G5 — считается связанным с заболеванием по оценке исследователя; Нет событий G4

Фиг. 101

ЧАСТОТА СЕРЬЕЗНЫХ TAEAE У ВСЕХ ПАЦИЕНТОВ – КОМБИНАЦИЯ (N = 13)

Предпочтительный термин	Степень 1/2 n (%)	Степень 3/4/5* n (%)	Все степени n (%)
Любое серьезное TEAE	1 (8)	4 (31)	5 (39)
Легочная эмболия*	-	2	2 (15)
Гипокалиемия*	-	1 (8)	1 (8)
Прогрессирование злокачественного новообразования*	-	1 (8)	1 (8)
Лихорадка*	1 (8)	-	1 (8)

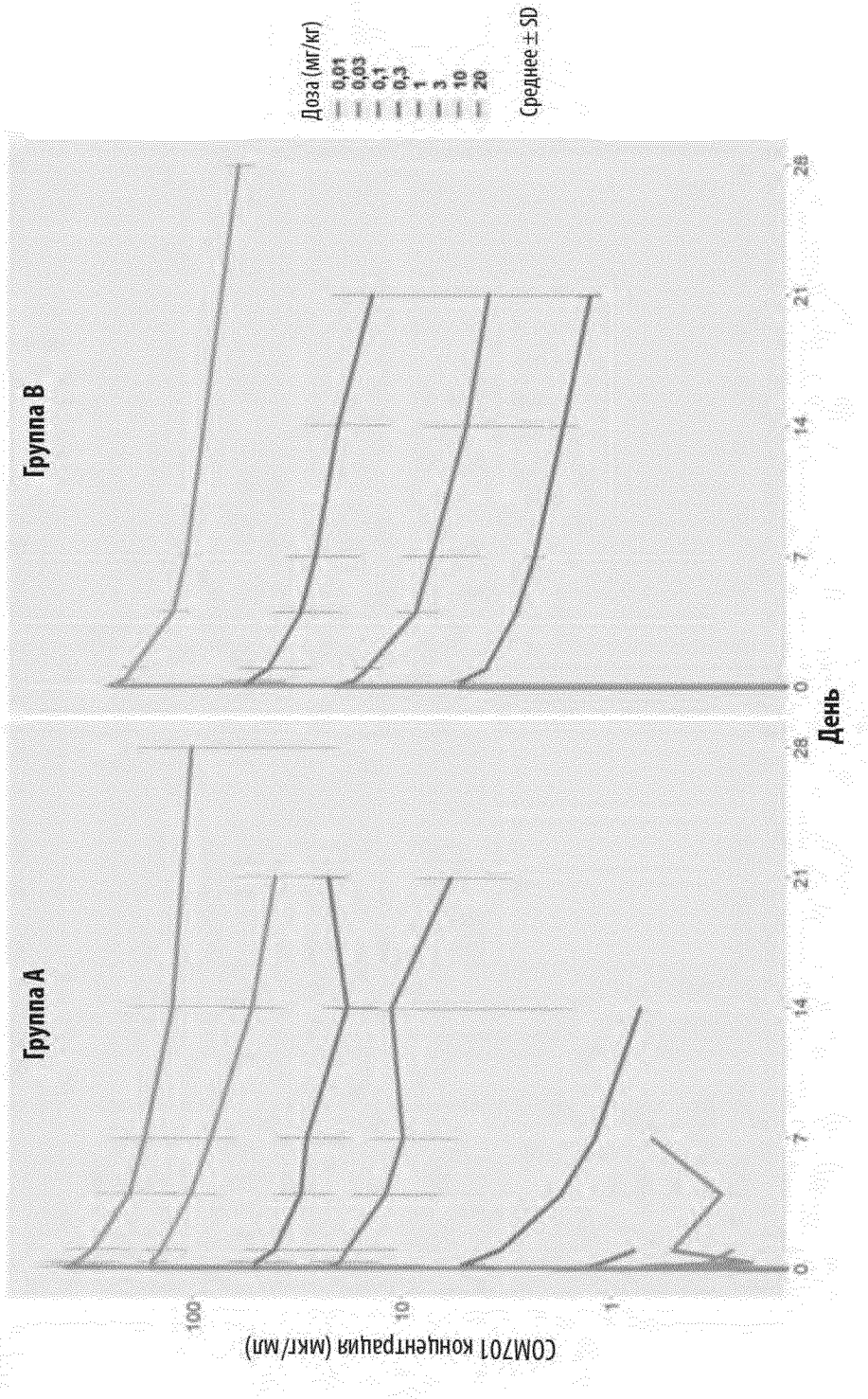
Набор для анализа безопасности – все субъекты, получившие ≥1 дозы любой исследуемой дозы

*Считается связанным с заболеванием по оценке следователя

Серьезных нежелательных явлений, связанных с CHA.7.518.1.H4(S241P), согласно оценке исследователя, не обнаружено

Фиг. 102

СНА.7.518.1.Н4(S241P) ФК ПРОФИЛЬ ПОСЛЕ В/В ИНФУЗИИ В ЦИКЛЕ 1, ДЕНЬ 1 – ГРУППЫ А и В

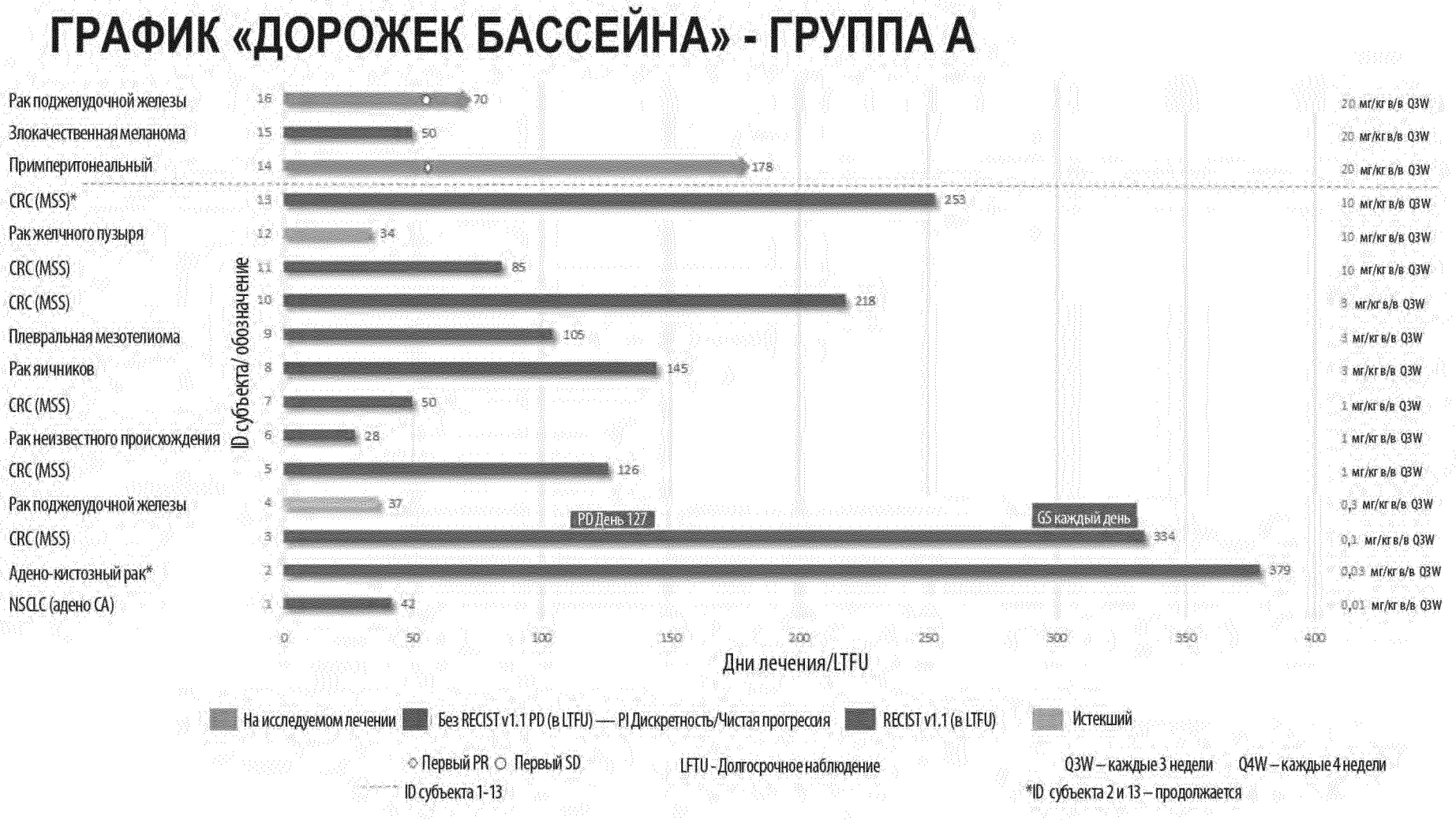


Фиг. 103

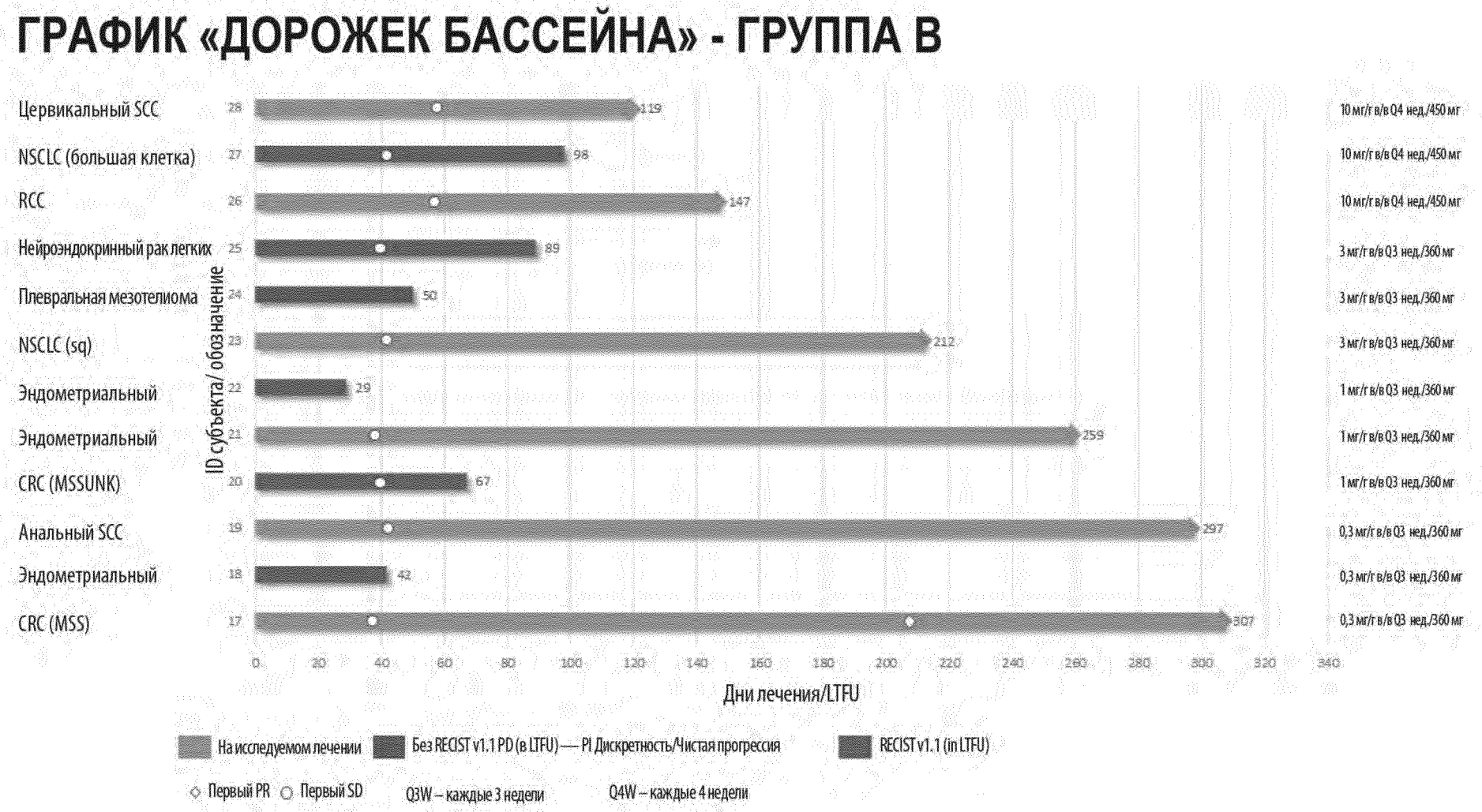
ОПИСАНИЕ ОТВЕТА, ОЦЕНЕННОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЕМ (по RECIST V1.1 DLT-ОЦЕНИВАЕМОЙ ПОПУЛЯЦИИ)

	Группа A (N = 16) n (%)		Группа B (N = 12) n (%)	
ORR (CR+PR)	1 (6)		1 (8)	
Уровень контроля заболевания (CR+PR+SD)	11 (69)		9 (75)	
Durable SD (SD ≥ 6 months)	2 (13)		4 (33)	
Лучший ответ				
CR	0		0	0
PR	1	(6)	1	(8)
SD	10	(63)	8	(67)
PD	4	(25)	2	(17)
NA	1	(6)	1	(8.3)

Фиг. 104A

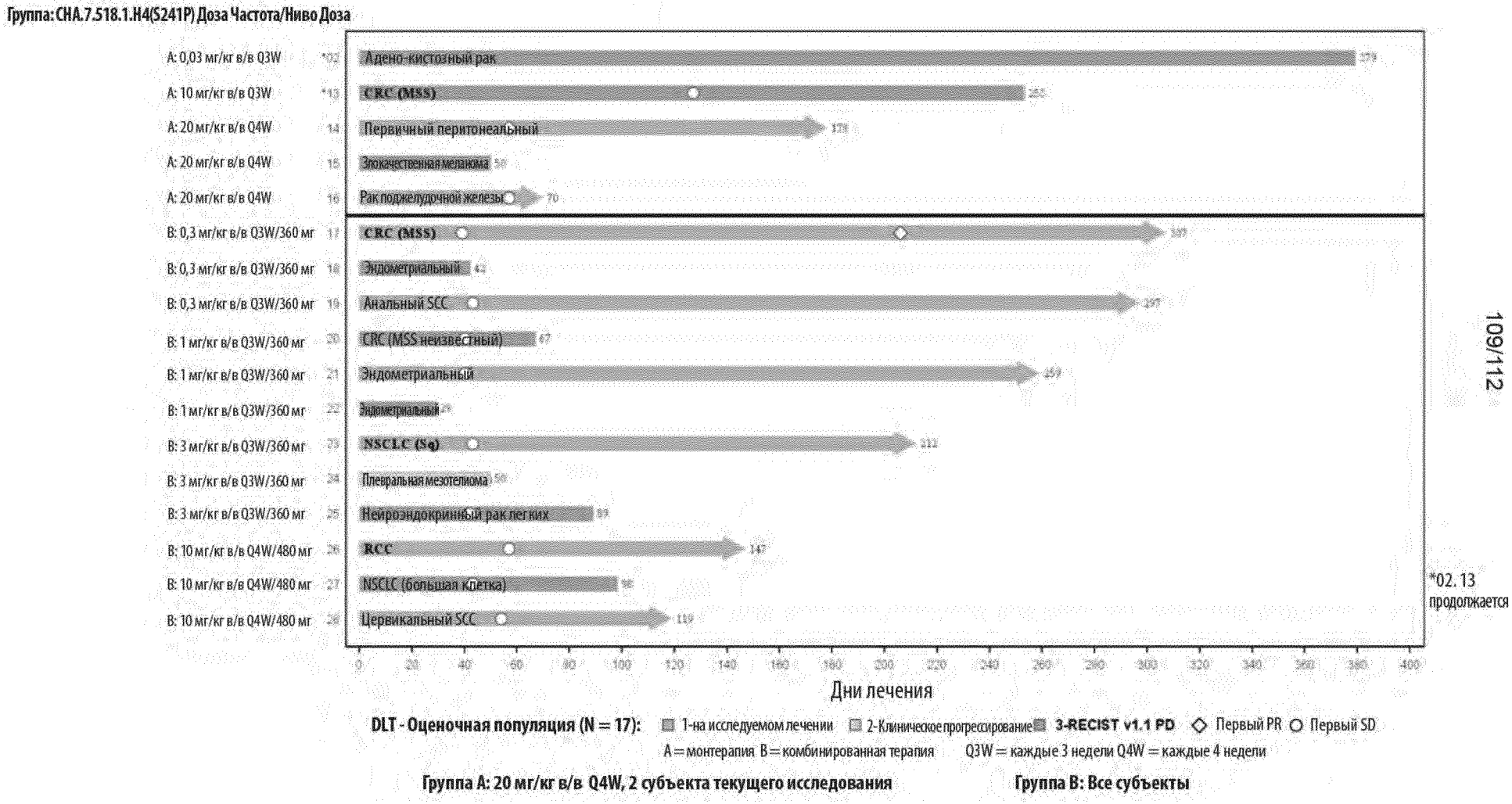

ГРАФИК «ДОРОЖЕК БАССЕЙНА» - ГРУППА А
Рак поджелудочной железы
Злокачественная меланома
Примперитонеальный
CRC (MSS)*
Рак желчного пузыря
CRC (MSS)
CRC (MSS)
Плевральная мезотелиома
Рак яичников
CRC (MSS)
Рак неизвестного происхождения
CRC (MSS)
Рак поджелудочной железы
CRC (MSS)
Адено-кистозный рак*
NSCLC (адено CA)
ID субъекта/ обозначение
16 70 20 мг/кг в/в Q3W
15 50 20 мг/кг в/в Q3W
14 178 20 мг/кг в/в Q3W
13 253 10 мг/кг в/в Q3W
12 34 10 мг/кг в/в Q3W
11 85 10 мг/кг в/в Q3W
10 218 3 мг/кг в/в Q3W
9 105 3 мг/кг в/в Q3W
8 145 3 мг/кг в/в Q3W
7 50 1 мг/кг в/в Q3W
6 28 1 мг/кг в/в Q3W
5 126 1 мг/кг в/в Q3W
4 37 0,3 мг/кг в/в Q3W
3 334 0,1 мг/кг в/в Q3W
2 379 0,03 мг/кг в/в Q3W
1 42 0,01 мг/кг в/в Q3W
PD День 127
GS каждый день
0 50 100 150 200 250 300 350 400
Дни лечения/LTFU
На исследуемом лечении
Без RECIST v1.1 PD (в LTFU) — PI Дискретность/Чистая прогрессия
RECIST v1.1 (в LTFU)
Истекший
Первый PR
Первый SD
ID субъекта 1-13
LFTU - Долгосрочное наблюдение
Q3W – каждые 3 недели
Q4W – каждые 4 недели
*ID субъекта 2 и 13 – продолжается

Фиг. 104B


ГРАФИК «ДОРОЖЕК БАССЕЙНА» - ГРУППА B
Цервикальный SCC
NSCLC (большая клетка)
RCC
Нейроэндокринный рак легких
Плевральная мезотелиома
NSCLC (sq)
Эндометриальный
Эндометриальный
CRC (MSSUNK)
Анальный SCC
Эндометриальный
CRC (MSS)
ID субъекта/ обозначение
28
27
26
25
24
23
22
21
20
19
18
17
119
98
147
89
50
212
29
259
67
297
42
307
10 мг/г в/в Q4 нед./450 мг
10 мг/г в/в Q4 нед./450 мг
10 мг/г в/в Q4 нед./450 мг
3 мг/г в/в Q3 нед./360 мг
3 мг/г в/в Q3 нед./360 мг
3 мг/г в/в Q3 нед./360 мг
1 мг/г в/в Q3 нед./360 мг
1 мг/г в/в Q3 нед./360 мг
1 мг/г в/в Q3 нед./360 мг
0,3 мг/г в/в Q3 нед./360 мг
0,3 мг/г в/в Q3 нед./360 мг
0,3 мг/г в/в Q3 нед./360 мг
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
320
340
Дни лечения/LTFU
На исследуемом лечении
Без RECIST v1.1 PD (в LTFU) — PI Дискретность/Чистая прогрессия
RECIST v1.1 (in LTFU)
Первый PR
Первый SD
Q3W – каждые 3 недели
Q4W – каждые 4 недели

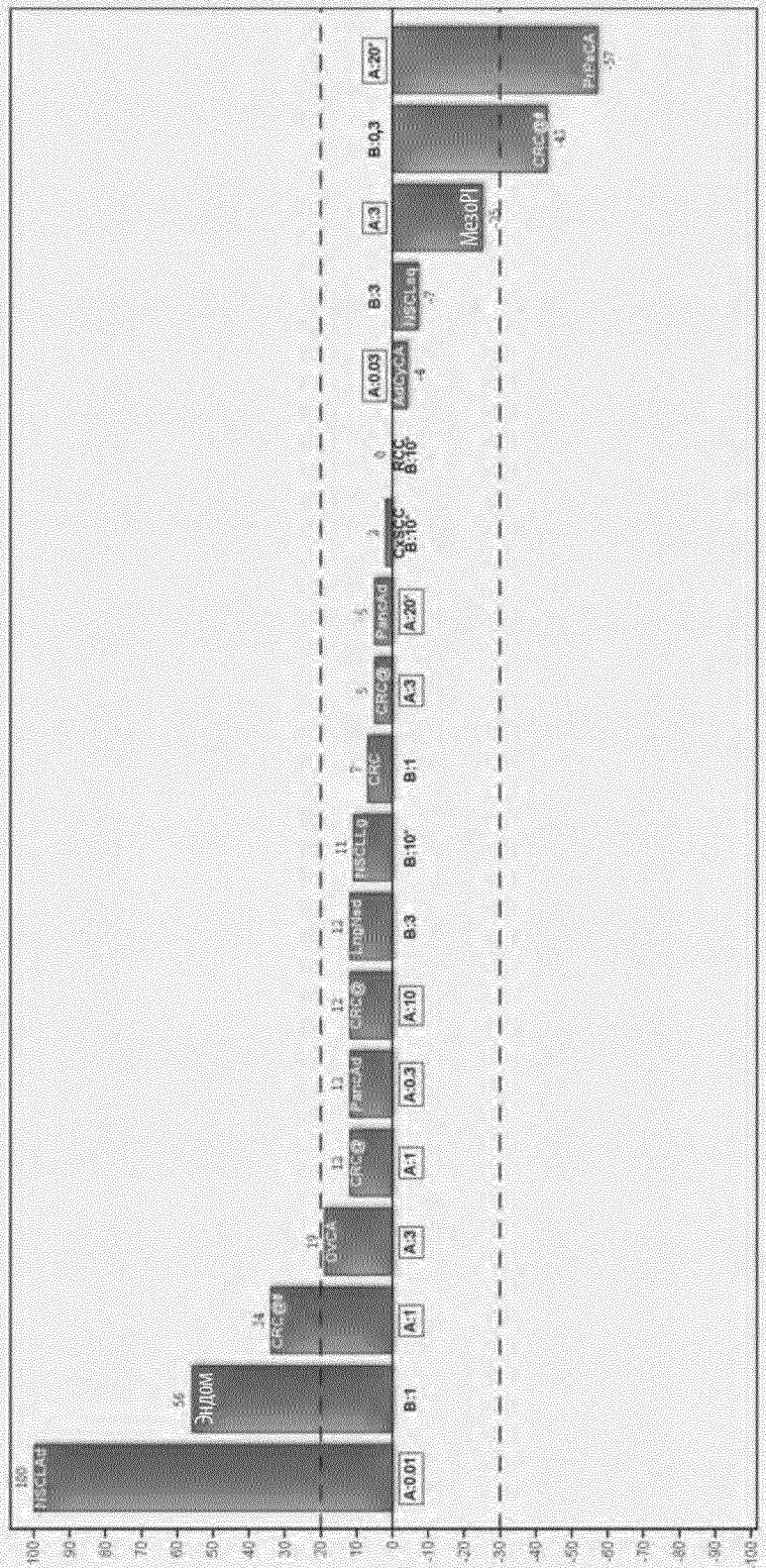
Фиг. 104C

ГРАФИК «ДОРОЖЕК БАССЕЙНА»



*02. 13
продолжается

Фиг. 105

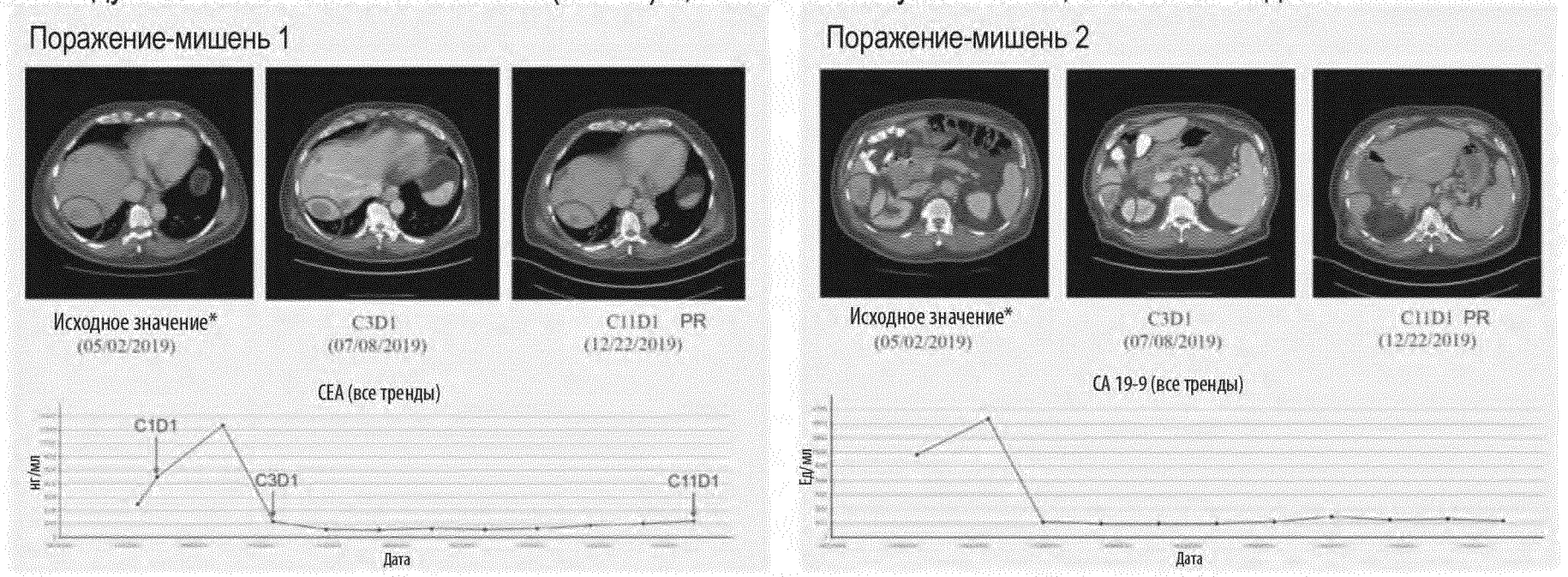

Наилучшее процентное изменение целевых поражений по сравнению с исходным уровнем
DLT — Оцениваемая популяция с поддающимся оценке и измерению целевым поражением (N = 19);
SD
PR
@ CRC-MSS #KRAS мутант
Схема лечения (доза ARM:COM17 (мг/кг)) отображается по оси x. A = монотерапия B = комбинированная терапия (ниволумаб 360 мг для доз COM701 < 10 мг/кг, ниволумаб 480 мг для более высоких доз COM701), *= Q4W.

Фиг. 106

CHA.7.518.1.H4(S241P) + НИВОЛУМАБ – ПОДТВЕРЖДЕННЫЙ PR У ПАЦИЕНТА С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ MSS (ПРОДОЛЖАЮЩЕЕСЯ ИССЛЕДОВАНИЕ, ЛЕЧЕНИЕ 44 НЕДЕЛИ)

66-летний мужчина с метастатическим CRC (стабильный PC), с мутацией KRAS s/p 4 предшествующих линий химиотерапии; Наилучший ответ PD на противораковую терапию до включения в исследование

Исследуемое лечение: CHA.7.518.1.H4(S241P) 0,3 мг/кг + ниволумаб 360 мг; оба в/в Q3 недели



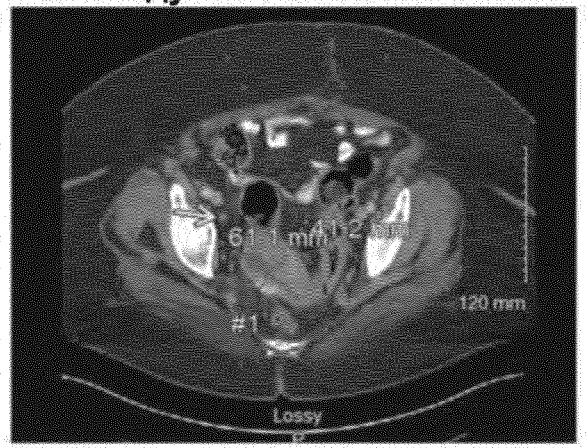
Фиг. 107

МОНОТЕРАПИЯ CHA.7.518.1.H4(S241P) – ПОДТВЕРЖДЕННЫЙ PR У ПАЦИЕНТА С ПЕРВИЧНЫМ РАКОМ БРЮШИНЫ, РЕЗИСТЕНТНЫМ К ПЛАТИНЕ MSS, ПРОДОЛЖАЮЩЕЕСЯ ЛЕЧЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ 25 НЕДЕЛЬ

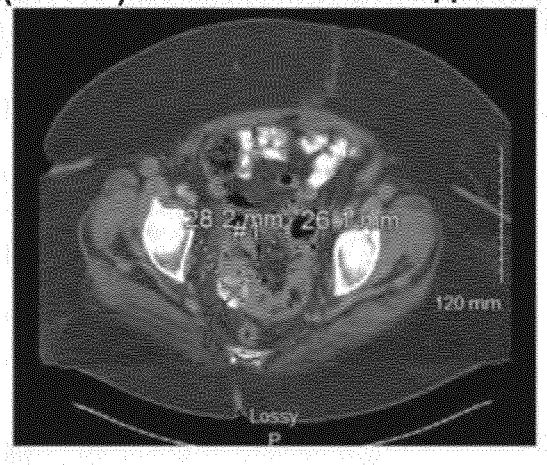
63-летняя женщина с микросателлитно-стабильным первичным раком брюшины, резистентным к платине. PDL1 отрицательный, мутация MRE11.

s/p 3 предшествующие линии химиотерапии

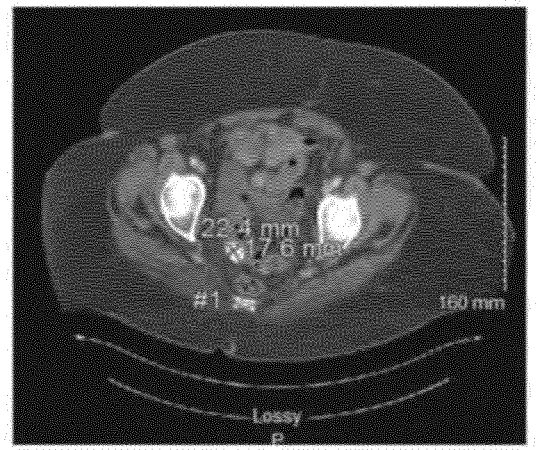
Исследуемое лечение: CHA.7.518.1.H4(S241P) 20 мг/кг в/в Q4 недели



Исходное значение: 9/11/19



C2D28: 12/2/19 (PR)



C6D28: 3/23/20 (PR)