

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291466** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.08.08

(51) Int. Cl. *A61P 37/00* (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.11.18

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ТЕПЛОВОЙ АУТОИММУННОЙ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНТИТЕЛ К FcRn

(31) **62/937,395**

(72) Изобретатель:

(32) **2019.11.19**

**Кокери Кристин Морел, Клафт
Джонатон Эндрю, Саймондс III
Уильям Томас (US)**

(33) **US**

(86) **PCT/US2020/061028**

(87) **WO 2021/101975 2021.05.27**

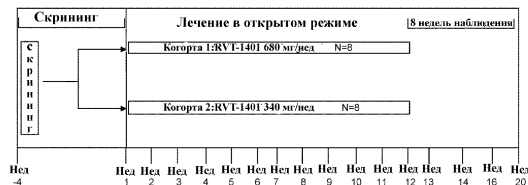
(74) Представитель:

(71) Заявитель:

**ИММУНОВАНТ САЙЕНСИ ГМБХ
(CN)**

**Ловцов С.В., Левчук Д.В., Вилесов
А.С., Стукалова В.В., Коптева Т.В.,
Гавриков К.В., Ясинский С.Я. (RU)**

(57) Изобретение относится к композициям, способам и применениям для использования выделенного антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента, которое связывается с неонатальным Fc-рецептором (FcRn) для профилактики, модулирования или лечения тепловой аутоиммунной гемолитической анемии.



**202291466
A1**

**202291466
A1**

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ТЕПЛОЙ АУТОИММУННОЙ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНТИТЕЛ К FcRn

ОПИСАНИЕ

[0001] Настоящее раскрытие испрашивает преимущество приоритета для предварительной патентной заявки США №62/937395, зарегистрированной 19 ноября 2019 года, полностью включенной в настоящий документ посредством ссылки.

[0002] Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате ASCII и полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Указанная копия ASCII, созданная 12 ноября 2020 года, называется 15193_0005-00304_SL.txt и имеет размер 34226 байт.

[0003] Настоящее раскрытие относится к терапевтическим способам, применениям и композициям, содержащим выделенное антитело к FcRn или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с неонатальным рецептором Fc (FcRn) для профилактики, модулирования или лечения тепловой аутоиммунной гемолитической анемии. В определенных аспектах настоящее раскрытие относится к способам лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии путем введения антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента нуждающемуся в этом пациенту. В определенных аспектах настоящее раскрытие относится к фармацевтическим композициям для лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии, содержащим антитело к FcRn или его антигенсвязывающий фрагмент и, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель.

[0004] Антитела представляют собой иммунологические белки, которые связываются со специфическим антигеном. У большинства животных, включая людей и мышей, антитела состоят из парных тяжелых и легких полипептидных цепей, и каждая цепь состоит из двух отдельных областей, обозначаемых как переменная и константная области. Переменные области тяжелой и легкой цепей демонстрируют значительное разнообразие последовательностей между антителами и отвечают за связывание антигена-мишени. Константные области демонстрируют меньшее разнообразие последовательностей и отвечают за связывание ряда природных белков, вызывающих различные биохимические процессы.

[0005] В нормальных условиях среднее время полувыведения из сыворотки большинства IgG (т.е., IgG1, IgG2 и IgG4, за исключением изотипа IgG3) составляет у людей приблизительно 21 сутки (Morell et al., J. Clin. Invest., 49(4):673-80, 1970), что является

длительным периодом относительно времени полувыведения из сыворотки других белков плазмы. В связи с этим длительным временем полувыведения из сыворотки IgG, IgG, который проникает в клетку посредством эндоцитоза, может прочно связываться с неонатальным Fc-рецептором (FcRn) в эндосомах при pH 6,0, чтобы избежать деградации по лизосомальному пути (FcRn, тип рецептора Fc-гамма, также обозначаемый как FcRP, FcRB или рецептор Брамбелла). Когда комплекс IgG-FcRn переходит в плазматическую мембрану, IgG быстро диссоциирует от FcRn в кровотоке при слегка щелочном pH (~7,4). С помощью этого опосредованного рецепторами механизма рециркуляции FcRn эффективно спасает IgG от деградации в лизосомах, тем самым продлевая время полужизни IgG (Roopenian et al., J. Immunol. 170:3528, 2003).

[0006] FcRn был идентифицирован в кишечнике новорожденных крыс, где он функционирует, опосредуя абсорбцию IgG из материнского молока и облегчая транспорт IgG в систему кровообращения. FcRn также был выделен из плаценты человека, где он опосредует абсорбцию и транспорт материнского IgG в кровотоки плода. У взрослых FcRn экспрессируется в ряде тканей, включая эпителиальные ткани легких, кишечника, почек, а также назальные, вагинальные поверхности и поверхность желчевыводящих путей.

[0007] FcRn представляет собой нековалентный гетеродимер, который, как правило, присутствует в эндосомах эндотелиальных и эпителиальных клеток. FcRn представляет собой связанный с мембраной рецептор, характеризующийся тремя альфа-доменами тяжелой цепи ($\alpha 1$, $\alpha 2$ и $\alpha 3$) и одним доменом растворимой легкой цепи $\beta 2$ -микроглобулина ($\beta 2m$). Структурно он принадлежит к семейству молекул главного комплекса гистосовместимости класса 1, у которых $\beta 2m$ является общей легкой цепью. Цепь FcRn имеет молекулярную массу приблизительно 46 кДа и состоит из эктодомена, содержащего домены тяжелой цепи $\alpha 1$, $\alpha 2$ и $\alpha 3$, и домена $\beta 2m$ легкой цепи, и одной цепи сахара, однопроходной трансмембранной области и относительно короткого цитоплазматического хвоста.

[0008] Чтобы изучить вклад FcRn в гомеостаз IgG, были сконструированы мыши для «нокаута», по меньшей мере, части генов, кодирующих $\beta 2m$ и тяжелую цепь FcRn, так что белки не экспрессировались. У этих мышей время полувыведения из сыворотки и концентрация IgG были резко снижены, что свидетельствует о FcRn-зависимом механизме гомеостаза IgG. Также было высказано предположение, что в этих FcRn-нокаутных мышках можно получать антитела к человеческому FcRn, и что антитела могут предотвращать связывание IgG с FcRn. Ингибирование связывания IgG с FcRn негативно влияет на время полувыведения IgG из сыворотки, предотвращая рециркуляцию IgG.

[0009] Аутоиммунная гемолитическая анемия является редкой и гетерогенной

болезнью, которая поражает приблизительно 1-3 на 100000 пациентов в год (Michel, Expert Rev. Hematol. 4(6):607-18, 2011; Sokol et al., Br. Med.J. (Clin.Res.Ed.) 282(6281):2023-7, 1981). Патология заболевания, вероятно, вызвана повышенной деструкцией нормальных эритроцитов (ККК), запускаемой аутоантителом, реагирующим на антигены ККК с активацией комплемента или без нее (Barcellini, Transfus. Med. Hemother. 42(5):287-93, 2015). Аутоиммунная гемолитическая анемия подразделяется на три основных типа в зависимости от оптимальной температуры, при которой аутоантитела связываются с эритроцитами пациента *in vivo*: тепловая аутоиммунная гемолитическая анемия, синдром холодových агглютининов и пароксизмальная холодная гемоглобинурия. Тепловая аутоиммунная гемолитическая анемия является наиболее распространенным типом аутоиммунной гемолитической анемии, на которую приходится от ~70% до ~80% всех случаев у взрослых и ~50% случаев у детей (Sokol et al., Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.) 282(6281):2023-7, 1981).

[0010] При тепловой аутоиммунной гемолитической анемии аутоантитела оптимально реагируют с эритроцитами приблизительно при 37°C. Эритроциты, покрытые реагирующими на тепло IgG, как правило, связываются макрофагами селезенки, которые несут Fcγ-рецепторы для тяжелой цепи IgG, и либо фагоцитируются, либо образуют микросфероциты, подвергающиеся дальнейшей деструкции при их последующем прохождении через селезенку (Kalfa, Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program 2016(1):690-7, 2016). Когда высокая концентрация IgG или IgG с высокой аффинностью к комплементу связана с эритроцитами, комплемент (C1q) может быть связан и активирован в направлении C3b. C3b-опсонизированные эритроциты затем могут подвергаться фагоцитозу с помощью макрофагов печени, несущих C3b-рецепторы, что еще больше способствует разрушению эритроцитов (Barcellini, Transfus. Med. Hemother. 42(5):287-93, 2015; Berentsen, Transfus. Med. Hemother. 42(5):303-10, 2015; LoBuglio et al., Science 158(3808):1582-5, 1967). Таким образом, аутоантитела, такие как IgG, могут играть роль в патогенезе тепловой аутоиммунной гемолитической анемии.

[0011] Настоящее раскрытие относится в различных вариантах осуществления к терапевтическим способам, применениям и композициям для лечения пациентов, страдающих тепловой аутоиммунной гемолитической анемией. Настоящее раскрытие более конкретно относится в различных вариантах осуществления к способу лечения пациента, страдающего тепловой аутоиммунной гемолитической анемией, путем введения пациенту терапевтически эффективного количества антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент формулируют в виде фармацевтической композиции.

Также предлагаются терапевтические применения антител, антигенсвязывающих фрагментов и фармацевтических композиций, описываемых в настоящем документе.

[0012] В различных вариантах осуществления лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, снижает уровень, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, одного IgG, например, патогенного IgG (например, патогенного IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4), сывороточного IgG1, сывороточного IgG2, сывороточного IgG3 или сывороточного IgG4) у пациента и/или в образце от пациента, например, пациента, страдающего тепловой аутоиммунной гемолитической анемией. В различных вариантах осуществления лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, снижает уровень, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, одного IgG) у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 25%, приблизительно на 35%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 60%, приблизительно на 70% или приблизительно на 80% относительно уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела у пациента и/или в образце перед лечением. В различных вариантах осуществления лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, снижает уровень, по меньшей мере, одного IgG у пациента и/или в образце от пациента, например, пациента, страдающего тепловой аутоиммунной гемолитической анемией. В различных вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит патогенный IgG (например, патогенный IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4). В различных вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит сывороточный IgG1. В различных вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит сывороточный IgG2. В различных вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит сывороточный IgG3. В различных вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит сывороточный IgG4.

[0013] В различных вариантах осуществления максимальное снижение уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, одного IgG) происходит в течение приблизительно от пяти до приблизительно тридцати суток после введения антитела, антигенсвязывающего фрагмента, или фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления максимальное снижение уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по мере, одного IgG) происходит приблизительно через 8 суток после

однократной дозы антитела, антигенсвязывающего фрагмента или фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления равновесное состояние достигается приблизительно после приема от трех до четырех доз антитела, антигенсвязывающего фрагмента или фармацевтической композиции.

[0014] В различных вариантах осуществления лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента, например, пациента, страдающего тепловой аутоиммунной гемолитической анемией. В различных вариантах осуществления лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 25%, приблизительно на 35%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 60%, приблизительно на 70% или приблизительно на 80% относительно уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце до лечения. В различных вариантах осуществления лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 40% (например, приблизительно от 40% до приблизительно 50%) приблизительно через одну или две недели еженедельного дозирования относительно уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце до лечения. В различных вариантах осуществления лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 60% (например, приблизительно от 60% до приблизительно 70%) приблизительно через 3 недели еженедельного дозирования относительно уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце до лечения. В различных вариантах осуществления лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 70% (например, приблизительно от 70% до приблизительно 80%) приблизительно через 5 недель еженедельного дозирования относительно уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце до лечения. В различных вариантах осуществления максимальное снижение уровня общего сывороточного IgG происходит в течение приблизительно от пяти суток до приблизительно тридцати суток после введения антитела, антигенсвязывающего фрагмента или

фармацевтической композиции. В различных вариантах осуществления максимальное снижение уровня общего сывороточного IgG происходит после приблизительно от трех до пяти доз (например, приблизительно после четырех доз) антитела, антигенсвязывающего фрагмента или фармацевтической композиции.

[0015] В различных вариантах осуществления лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, повышает уровень гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента, например, пациента, страдающего тепловой аутоиммунной гемолитической анемией. В различных вариантах осуществления лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, повышает уровень гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 15% или приблизительно на 20% (например, приблизительно от 5% до приблизительно 30%) относительно уровня гемоглобина у пациента и/или в образце до лечения. В различных вариантах осуществления лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, повышает уровень гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 10% (например, приблизительно от 10% до приблизительно 15%) приблизительно через одну или две недели еженедельного дозирования относительно уровня гемоглобина у пациента и/или в образце до начала лечения. В различных вариантах осуществления лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, повышает уровень гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 20% (например, приблизительно от 20% до приблизительно 25%) приблизительно через одну или две недели еженедельного дозирования относительно уровня гемоглобина у пациента и/или в образце до начала лечения. В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% и более) сохраняется в течение всего периода лечения или его части. В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% и более) сохраняется в течение, по меньшей мере, двух, трех или четырех недель (например, 4 недели или дольше). В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% и более) сохраняется приблизительно от двух до приблизительно

шести недель.

[0016] В различных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к терапевтическим способам, применениям и композициям для лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии.

[0017] В различных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к способу лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у нуждающегося в этом пациента, предусматривающему введение пациенту (i) терапевтически эффективного количества антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента; или (ii) фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель и терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0018] В различных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к антителу к FcRn или его антигенсвязывающему фрагменту для применения в способе лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у нуждающегося в этом пациента, в способе, предусматривающем введение пациенту (i) терапевтически эффективного количества антитела или антигенсвязывающего фрагмента, или (ii) фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель и терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

[0019] В различных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к применению антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента в способе лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у нуждающегося в этом пациента, предусматривающем введение пациенту (i) терапевтически эффективного количества антитела или антигенсвязывающего фрагмента или (ii) фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель и терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

[0020] В различных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к применению антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента в производстве лекарственного средства для лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у нуждающегося в этом пациента.

[0021] В различных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к набору, содержащему антитело к FcRn или его антигенсвязывающий фрагмент и инструкции для применения антитела или антигенсвязывающего фрагмента для лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у нуждающегося в этом пациента.

[0022] В различных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к фармацевтической композиции для применения для лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у нуждающегося в этом пациента, фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель и антитело к FcRn или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0023] В некоторых вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе (например, для лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии), антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No:27 (HCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 28 (HCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 29 (HCDR3); и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 30 (LCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 31 (LCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 32 (LCDR3). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 21 (HCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 22 (HCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 23 (HCDR3); и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 24 (LCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 25 (LCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 26 (LCDR3). В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 170 мг до приблизительно 1500 мг. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 300 мг до приблизительно 800 мг. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг, вводимых раз в неделю в виде одной или нескольких подкожных инъекций. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или

антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг (например, приблизительно 680 мг), вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, двух недель (например, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 10 недель, 12 недель или дольше). В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг (например, приблизительно 680 мг), вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, четырех недель. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг (например, приблизительно 680 мг), вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, семи недель. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг (например, приблизительно 680 мг), вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, двенадцати недель.

[0024] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело или антигенсвязывающий фрагмент представляют собой любое из антител или антигенсвязывающих фрагментов, раскрытых в международной заявке PCT/KR2015/004424 (публикация №. WO2015/167293 A1), включенной в настоящий документ посредством ссылки.

[0025] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

[0026] CDR1, содержащую одну или несколько аминокислотных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID No: 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39 и 42;

[0027] CDR2, содержащую одну или несколько аминокислотных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID No: 22, 25, 28, 31, 34, 37, 40 и 43; и

[0028] CDR3, содержащую одну или несколько аминокислотных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID No: 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41 и 44.

[0029] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

[0030] CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична одной или нескольким аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID No: 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39 и 42;

[0031] CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична одно или нескольким аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID No: 22, 25, 28, 31, 34, 37, 40 и 43; и

[0032] CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична одной или нескольким аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID Nos: 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41 и 44.

[0033] В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 27 (HCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 28 (HCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 29 (HCDR3); и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 30 (LCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 31 (LCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 32 (LCDR3). В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 21 (HCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 22 (HCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 23 (HCDR3); и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 24 (LCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 25 (LCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 26 (LCDR3).

[0034] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит одну или несколько переменных областей тяжелой цепи и одну или несколько переменных областей легкой цепи, где переменные области тяжелой цепи и переменные области легкой цепи содержат одну или несколько аминокислотных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID No: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 и 20.

[0035] В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID No: 4 или SEQ ID No: 6; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 14 или SEQ ID No: 16. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 6; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 16. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 4; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 14. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 2; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 12.

[0036] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит одну или несколько переменных областей тяжелой цепи и одну или несколько переменных областей легкой цепи, где переменные области тяжелой цепи и переменные области легкой цепи содержат аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична одной или нескольким аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID No: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 и 20. В различных вариантах осуществления переменные области тяжелой цепи и переменные области легкой цепи содержат аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 91%, по меньшей мере, на 92%, по меньшей мере, на 93%, по меньшей мере, на 94%, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 96%, по меньшей мере, на 97%, по меньшей мере, на 98%, или, по меньшей мере, на 99% идентична одной или нескольким аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID No: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 и 20.

[0037] В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 6; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 16. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по

меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 4; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 14. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 2; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 12.

[0038] В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с FcRn с K_D (константой диссоциации) приблизительно от 0,01 нМ до приблизительно 2 нМ при pH 6,0 или pH 7,4, как измерено, например, с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР). В различных вариантах осуществления K_D измеряют путем поверхностного плазмонного резонанса (например, поверхностного плазмонного резонанса с иммобилизованным человеческим FcRn). В различных вариантах осуществления K_D измеряют путем поверхностного плазмонного резонанса с иммобилизованным человеческим FcRn.

[0039] В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент представляет собой любое из антител или антигенсвязывающих фрагментов, раскрытых или включенных посредством ссылки в настоящем документе.

[0040] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, пациент или образец от пациента (например, пациента, страдающего тепловой аутоиммунной гемолитической анемией) имеет обнаруживаемый уровень антиэритроцитарного IgG (анти-ККК IgG). В некоторых вариантах осуществления антиэритроцитарный IgG представляет собой антиэритроцитарный IgG1. В некоторых вариантах осуществления антиэритроцитарный IgG представляет собой антиэритроцитарный IgG2. В некоторых вариантах осуществления антиэритроцитарный IgG представляет собой антиэритроцитарный IgG3. В некоторых вариантах осуществления антиэритроцитарный IgG представляет собой антиэритроцитарный IgG4.

[0041] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят подкожно. В различных вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят в виде одной или нескольких подкожных инъекций. В различных вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или

фармацевтическую композицию вводят в виде одной или нескольких внутривенных инъекций. В различных вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят без внутривенного применения (например, внутривенного введения) перед одной или несколькими подкожными инъекциями. В различных вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическая композиция находятся в шприце перед введением. В различных вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят в виде однократной (т.е., одной) подкожной инъекции. В различных вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят в виде двух или более (например, двух) последовательных подкожных инъекций. В различных вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят в виде фиксированной дозы.

[0042] В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в виде однократной дозы или один раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в виде однократной подкожной инъекции. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в виде двух или более последовательных подкожных инъекций. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение, по меньшей мере, двух недель, по меньшей мере, трех недель, по меньшей мере, четырех недель, по меньшей мере, пяти недель, по меньшей мере, шести недель, по меньшей мере, семи недель, по меньшей мере, восьми недель, по меньшей мере, девяти недель, по меньшей мере, десяти недель, по меньшей мере, двенадцати недель, по меньшей мере, двадцати недель, по меньшей мере, двадцати четырех недель, по меньшей мере, тридцати недель, по меньшей мере, сорока недель, по меньшей мере, пятидесяти недель, по меньшей мере, шестидесяти недель, по меньшей мере, семидесяти недель, по меньшей мере, семидесяти шести недель, по меньшей мере, восьмидесяти недель или дольше. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение, по меньшей мере, четырех недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение 6-76 недель или в течение любого другого периода времени в этом

диапазоне. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение, по меньшей мере, шести недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение, по меньшей мере, семи недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение, по меньшей мере, двенадцати недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение, по меньшей мере, двадцати четырех недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение, по меньшей мере, семидесяти шести недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю до тех пор, пока не будет достаточно для лечения, профилактики, уменьшения тяжести, отсрочки начала, и/или снижения риска возникновения одного или нескольких симптомов тепловой аутоиммунной гемолитической анемии.

[0043] В некоторых вариантах осуществления у пациента выявлена тепловая аутоиммунная гемолитическая анемия. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в виде однократной подкожной инъекции в течение, по меньшей мере, четырех недель (например, в дозе приблизительно 340 мг). В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в виде однократной подкожной инъекции в течение, по меньшей мере, семи недель (например, в дозе приблизительно 340 мг). В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в виде однократной подкожной инъекции в течение, по меньшей мере, двенадцати недель (например, в дозе приблизительно 340 мг). В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическая композиция вводят пациенту один раз в неделю в виде двух или более (например, двух) последовательных подкожных инъекций в течение, по меньшей мере, четырех недель (например, в дозе приблизительно 680 мг). В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в виде двух или более (например, двух) последовательных подкожных инъекций в течение, по меньшей

мере, семи недель (например, в дозе приблизительно 680 мг). В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в виде двух или более (например, двух) последовательных подкожных инъекций в течение, по меньшей мере, двенадцати недель (например, в дозе приблизительно 680 мг). В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в виде одной или нескольких подкожных инъекций до тех пор, пока не будет достаточно для лечения, профилактики, уменьшения тяжести, отсрочки начала, и/или снижения риска возникновения одного или нескольких симптомов тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у пациента. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту в дозе приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг.

[0044] В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз каждые две недели (раз в две недели). В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз каждые две недели в виде однократной подкожной инъекции. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз каждые две недели в виде двух или более последовательных подкожных инъекций. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз каждые две недели в течение, по меньшей мере, двух недель, по меньшей мере, четырех недель, по меньшей мере, шести недель, по меньшей мере, восьми недель, по меньшей мере, десяти недель, по меньшей мере, двенадцати недель, по меньшей мере, двадцати недель, по меньшей мере, двадцати четырех недель, по меньшей мере, тридцати недель, по меньшей мере, сорока недель, по меньшей мере, пятидесяти недель, по меньшей мере, шестидесяти недель, по меньшей мере, семидесяти недель, по меньшей мере, семидесяти шести недель, по меньшей мере, восьмидесяти недель или дольше. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз каждые две недели в течение 6-76 недель или в течение любого другого периода времени в этом диапазоне. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз каждые две недели в течение, по меньшей мере, шести недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз каждые две недели в течение, по меньшей мере, двенадцати недель. В

некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз каждые две недели в течение, по меньшей мере, двадцати четырех недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз каждые две недели в течение, по меньшей мере, семидесяти шести недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент, или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз каждые две недели до тех пор, пока не будет достаточно для лечения, профилактики, уменьшения тяжести, отсрочки начала, и/или снижения риска возникновения одного или нескольких симптомов тепловой аутоиммунной гемолитической анемии.

[0045] В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в месяц. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в месяц в виде однократной подкожной инъекции. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в месяц в виде двух или более последовательных подкожных инъекций. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в месяц в течение, по меньшей мере, одного месяца, по меньшей мере, двух месяцев, по меньшей мере, трех месяцев, по меньшей мере, четырех месяцев, по меньшей мере, пяти месяцев, по меньшей мере, шести месяцев, по меньшей мере, семи месяцев, по меньшей мере, восьми месяцев, по меньшей мере, девяти месяцев, по меньшей мере, десяти месяцев, по меньшей мере, одиннадцати месяцев, по меньшей мере, двенадцати месяцев, по меньшей мере, восемнадцати месяцев, по меньшей мере, двадцати четырех месяцев, по меньшей мере, тридцати месяцев, по меньшей мере, тридцати шести месяцев или дольше. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в месяц до тех пор, пока не будет достаточно для лечения, профилактики, уменьшения тяжести, отсрочки начала, и/или снижения риска возникновения одного или нескольких симптомов тепловой аутоиммунной гемолитической анемии.

[0046] В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз или более одного раза в течение периода приблизительно в 1 сутки, 2 суток, 3 суток, 4 суток, 5 суток, 6 суток, 7 суток, 8 суток, 9 суток, 10 суток, 11 суток, 12 суток, 13 суток, 14 суток, 1 неделю, 2 недели,

3 недели, 4 недели, 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев, 24 месяцев, 30 месяцев, 36 месяцев или дольше.

[0047] В различных вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическая композиция вводятся пациентом самостоятельно. В различных вариантах осуществления пациент самостоятельно вводит антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию в домашних условиях. В различных вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент, или фармацевтическую композицию вводит лечащий врач. В различных вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят отдельно, т.е., в виде отдельного средства. В различных вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят в комбинации, по меньшей мере, с одним дополнительным терапевтическим средством.

[0048] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 170 мг до приблизительно 300 мг. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 300 мг до приблизительно 500 мг. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 500 мг до приблизительно 700 мг. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 700 мг до приблизительно 900 мг. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 900 мг до приблизительно 1100 мг. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 1100 мг до приблизительно 1300 мг. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 1300 мг до приблизительно 1500 мг. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет количество, необходимое для снижения уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по

меньшей мере, одного IgG) у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 25%, приблизительно на 35%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 60%, приблизительно на 70%, приблизительно на 80% или больше. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет количество, необходимое для снижения уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 25%, приблизительно на 35%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 60%, приблизительно на 70%, приблизительно на 80% или больше. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет количество, необходимое для повышения уровня гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 15%, приблизительно на 20% или больше.

[0049] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 300 мг до приблизительно 900 мг. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 300 мг до приблизительно 900 мг, вводимых раз в неделю или раз в каждые две недели. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 300 мг до приблизительно 400 мг, приблизительно от 400 мг до приблизительно 500 мг, приблизительно от 500 мг до приблизительно 600 мг, приблизительно от 600 мг до приблизительно 700 мг, приблизительно от 700 мг до приблизительно 800 мг, или приблизительно от 800 мг до приблизительно 900 мг. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 300 мг до приблизительно 400 мг, приблизительно от 400 мг до приблизительно 500 мг, приблизительно от 500 мг до приблизительно 600 мг, приблизительно от 600 мг до приблизительно 700 мг, приблизительно от 700 мг до приблизительно 800 мг, или приблизительно от 800 мг до приблизительно 900 мг, вводимых раз в неделю или раз в каждые две недели.

[0050] В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 300 мг до приблизительно 400 мг (например, приблизительно от 300 мг до приблизительно

350 мг, например, приблизительно 340 мг). В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг, вводимых раз в неделю. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг, вводимых раз в неделю в виде одной подкожной инъекции. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг, вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, двух недель (например, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 10 недель, 12 недель или дольше). В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг, вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, четырех недель. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг, вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, семи недель. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг, вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, двенадцати недель.

[0051] В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 650 мг до приблизительно 750 мг (например, приблизительно от 650 мг до приблизительно 700 мг, например, приблизительно 680 мг). В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 680 мг. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 680 мг, вводимых раз в неделю. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 680 мг, вводимых раз в неделю в виде двух или более (например, двух) последовательных подкожных инъекций. В различных вариантах осуществления каждая подкожная инъекция содержит приблизительно равное количество (например, приблизительно 340 мг) антитела или антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 680 мг, вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, двух недель (например, 2 недели, 3 недели, 4 недели,

5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 10 недель, 12 недель или дольше). В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 680 мг, вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, четырех недель. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 680 мг, вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, семи недель. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 680 мг, вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, двенадцати недель.

[0052] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, лечение антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией по настоящему раскрытию снижает уровень, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, IgG) у пациента и/или в образце у пациента, например, у пациента, страдающего тепловой аутоиммунной гемолитической анемией. В некоторых вариантах осуществления лечение снижает уровень, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, одного IgG) у пациента и/или в образце у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 20%, приблизительно на 25%, приблизительно на 30%, приблизительно на 35%, приблизительно на 40%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 55%, приблизительно на 60%, приблизительно на 65%, приблизительно на 70%, приблизительно на 75%, приблизительно на 80%, приблизительно на 85% или приблизительно на 90%, т.е., относительно уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела у пациента и/или в образце до начала лечения. В некоторых вариантах осуществления лечение снижает уровень, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, одного IgG) у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 40%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 55%, приблизительно на 60%, приблизительно на 65%, приблизительно на 70%, приблизительно на 75%, приблизительно на 80%, приблизительно на 85% или приблизительно на 90%, т.е., относительно уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела у пациента и/или в образце до начала лечения. В некоторых вариантах осуществления уровень, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, одного IgG) измеряют в начале лечения и/или приблизительно через одну неделю, приблизительно через две недели, приблизительно через три недели, приблизительно через четыре недели, приблизительно

через пять недель, приблизительно через шесть недель, приблизительно через семь недель и/или приблизительно через восемь недель после начала лечения. В некоторых вариантах осуществления максимальное снижение уровня аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, одного IgG) у пациента происходит в течение приблизительно от пяти суток до приблизительно сорока суток или приблизительно от пяти суток до приблизительно тридцати суток после введения антитела, антигенсвязывающего фрагмента или фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления максимальное снижение уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, одного IgG) у пациента происходит приблизительно в течение от пятнадцати суток до приблизительно тридцати суток после введения антитела, антигенсвязывающего фрагмента или фармацевтической композиции.

[0053] В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит патогенный IgG (например, патогенный IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4). В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит антиэритроцитарный IgG (например, антиэритроцитарный IgG1, антиэритроцитарный IgG2, антиэритроцитарный IgG3 и/или антиэритроцитарный IgG4). В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит сывороточный IgG1. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит сывороточный IgG2. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит сывороточный IgG3. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит сывороточный IgG4.

[0054] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, лечение антителом к FcRn, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией по настоящему раскрытию снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента, например, пациента, страдающего тепловой аутоиммунной гемолитической анемией. В некоторых вариантах осуществления лечение снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента приблизительно на 20%, приблизительно на 25%, приблизительно на 30%, приблизительно на 35%, приблизительно на 40%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 55%, приблизительно на 60%, приблизительно на 65%, приблизительно на 70%, приблизительно на 75%, приблизительно на 80%, приблизительно на 85% или приблизительно на 90%, т.е., относительно уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце перед лечением. В некоторых вариантах осуществления лечение снижает уровень общего

сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента приблизительно на 40%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 55%, приблизительно на 60%, приблизительно на 65%, приблизительно на 70%, приблизительно на 75%, приблизительно на 80%, приблизительно на 85% или приблизительно на 90%, т.е., относительно уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце до лечения. В различных вариантах осуществления лечение снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 40% (например, приблизительно от 40% до приблизительно 50%) после приблизительно одной или двух недель еженедельного дозирования, т.е. е., относительно уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце до начала лечения. В различных вариантах осуществления лечение снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 60% (например, приблизительно от 60% до приблизительно 70%) после приблизительно трех недель еженедельного дозирования, т.е. относительно уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце до начала лечения. В различных вариантах осуществления лечение снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 70% (например, приблизительно от 70% до приблизительно 80%) после приблизительно пяти недель еженедельного дозирования, т.е. относительно уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце до начала лечения. В некоторых вариантах осуществления уровень общего сывороточного IgG измеряют в начале лечения и/или приблизительно через одну неделю, приблизительно через две недели, приблизительно через три недели, приблизительно через четыре недели, приблизительно через пять недель, приблизительно через шесть недель, приблизительно через семь недель и/или приблизительно через восемь недель после начала лечения. В некоторых вариантах осуществления максимальное снижение уровня общего сывороточного IgG у пациента происходит в течение приблизительно от пяти суток до приблизительно сорока суток или приблизительно от пяти суток до приблизительно тридцати суток после введения антитела, антигенсвязывающего фрагмента или фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления максимальное снижение уровня общего сывороточного IgG у пациента происходит в течение приблизительно от пятнадцати суток до приблизительно тридцати суток после введения антитела, антигенсвязывающего фрагмента или фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления максимальное снижение уровня общего сывороточного IgG происходит после приблизительно 3-5 доз (например, приблизительно после четырех доз) антитела, антигенсвязывающего фрагмента или фармацевтической композиции.

[0055] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, лечение антителом к FcRn, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией по настоящему раскрытию повышает уровень гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента, например, пациента, страдающего тепловой аутоиммунной гемолитической анемией. В различных вариантах осуществления лечение повышает уровень гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 15% или приблизительно на 20% (например, приблизительно от 5% до приблизительно 30%), т.е., относительно уровня гемоглобина у пациента и/или в образце до лечения. В различных вариантах осуществления лечение повышает уровень гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 10% (например, приблизительно от 10% до приблизительно 15%) после приблизительно одной или двух недель еженедельного дозирования, т.е., относительно уровня гемоглобина у пациента и/или в образце до начала лечения. В различных вариантах осуществления лечение повышает уровень гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 20% (например, приблизительно от 20% до приблизительно 25%) после приблизительно одной или двух недель еженедельного дозирования, т.е., относительно уровня гемоглобина у пациента и/или в образце до начала лечения. В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% и более) сохраняется в течение всего периода лечения или его части. В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента и/или в образце у пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% и более) сохраняется в течение, по меньшей мере, двух, трех или четырех недель (например, четыре недели или дольше). В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента и/или в образце у пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% и более) сохраняется приблизительно от двух до приблизительно шести недель.

Краткое описание чертежей

[0056] На фиг. 1 представлены результаты анализа экспрессии антитела в клетках CHO-S и анализа антительных белков HL161A, HL161B, HL161C, и HL161D, полученных с использованием очистки посредством белка А, на геле SDS-PAGE при восстановительных и невосстановительных условиях. При невосстановительных условиях каждое из антител HL161 имело структуру типа полноразмерного человеческого IgG1 размером приблизительно 160 кДа, а при восстановительных условиях тяжелая цепь имела размер

приблизительно 55 кДа, а легкая цепь имела размер приблизительно 25 кДа. На фиг. 1, дорожка 1 представляет маркер молекулярной массы (M.W.), дорожка 2 представляет 2 мкг невосстановленного (*NEM-обработанного) антитела, а дорожка 3 представляет 2 мкг восстановленного антитела.

[0057] На фиг. 2A-2H показаны результаты анализа с использованием системы поверхностного плазмонного резонанса (ППР) для определения кинетической диссоциации (K_D) четырех антител (HL161A, HL161B, HL161C и HL161D), которые связываются с FcRn. Результаты на фиг. 2A-2H получали путем анализа взаимодействия FcRn человека с антителами HL161A, HL161B, HL161C или HL161D при pH 6,0 и pH 7,4 с использованием чипа Proteon GLC и системы Proteon XPR36 (Bio-Rad).

[0058] На фиг. 2A представлены результаты анализа взаимодействия между FcRn человека и антителом HL161A при pH 6,0.

[0059] На фиг. 2B представлены результаты анализа взаимодействия между FcRn человека и антителом HL161A при pH 7,4.

[0060] На фиг. 2C представлены результаты анализа взаимодействия между FcRn человека и антителом HL161B при pH 6,0.

[0061] На фиг. 2D представлены результаты анализа взаимодействия между FcRn человека и антителом HL161B при pH 7,4.

[0062] На фиг. 2E представлены результаты анализа взаимодействия между FcRn человека и антителом HL161C при pH 6,0.

[0063] На фиг. 2F представлены результаты анализа взаимодействия между FcRn человека и антителом HL161C при pH 7,4.

[0064] На фиг. 2G представлены результаты анализа взаимодействия между FcRn человека и антителом HL161D при pH 6,0.

[0065] На фиг. 2H представлены результаты анализа взаимодействия между FcRn человека и антителом HL161D при pH 7,4.

[0066] На фиг. 3 представлена способность двух выбранных антител связываться с клеточной поверхностью, и показаны результаты, полученные путем обработки клеток НЕК293 со сверхэкспрессией FcRn выбранными антителами HL161A и HL161B, которые связываются с FcRn человека, присутствующим на клеточной поверхности, и анализом связывания антител с клеточной поверхностью при pH 6,0 и pH 7,4. Связывание каждого из антител HL161A и HL161B с FcRn человека выражали в виде значения MFI, полученного с помощью сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) с использованием меченого Alexa488 антитела козы к человеческому антителу после обработки клеток каждым антителом при различных pH.

[0067] На фиг. 4 представлены результаты анализа способности блокировать связывание IgG человека с клетками, экспрессирующими FcRn человека, при pH 6,0, и показаны результаты наблюдения за тем, может ли связывание двух выбранных антител с FcRn человека на поверхности клетки блокировать связывание IgG человека с FcRn человека на клеточном уровне. Профиль способности блокировать связывание Alexa488-меченого IgG человека с FcRn человека получали путем серийного 4-кратного разведения от 200 нм каждого из антител HL161A и HL161B, для которых подтверждено связывание с клетками HEK293, сверхэкспрессирующими FcRn человека.

[0068] На фиг. 5A и 5B показаны результаты анализа воздействия на катаболизм hIgG1 антител HL161A и HL161B, выбранных у трансгенной мыши Tg32, экспрессирующей FcRn человека (hFcRn+/+, h β 2m+/+, mFcRn-/-, m β 2m-/-). В 0 часов внутрибрюшинно вводили 5 мг/кг биотин-hIgG и 495 мг/кг IgG человека для насыщения IgG *in vivo*. Что касается введения лекарственного средства, то через 24, 48, 72 и 96 часов после введения инъецировали внутрибрюшинно биотин-IgG, IgG1, HL161A, HL161B или PBS в дозах 5, 10 и 20 мг/кг один раз в сутки. Сбор образцов проводили через 24, 48, 72, 96, 120 и 168 часов после введения биотин-IgG. Через 24, 48, 72 и 96 часов кровь собирали перед введением лекарственного средства, а оставшееся количество биотин-IgG анализировали методом ИФА. Результаты были выражены как отношение оставшегося количества в каждый момент времени к 100% для оставшегося количества в образце крови, собранного через 24 часа.

[0069] На фиг. 6A-6C показаны результаты анализа изменения уровня IgG обезьяны в крови, вызванного введением двух антител (HL161A и HL161B) яванским макакам, имеющим гомологию последовательности 96% с FcRn человека. Каждое из антител HL161A и HL161B вводили внутривенно яванским макакам в дозах 5 мг/кг и 20 мг/кг один раз в сутки.

[0070] На фиг. 6A представлены воздействия антител HL161A и HL161B на снижение IgG в сыворотке при различных концентрациях антитела.

[0071] На фиг. 6B представлены воздействия антител HL161A и HL161B на снижение IgG в сыворотке (концентрация: (5 мг/кг) у особей обезьян).

[0072] На фиг. 6C представлены воздействия антител HL161A и HL161B на снижение IgG в сыворотке (концентрация: (20 мг/кг) у особей обезьян).

[0073] На фиг. 7A-7B показаны результаты анализа фармакокинетических профилей HL161A и HL161B в эксперименте, проведенном с использованием яванских макаков.

[0074] На фиг. 8A-8C показаны результаты анализа изменений в крови обезьяны уровней IgM, IgA и альбумина, вызванных введением антител HL161A и HL161B в

эксперименте, проведенном с использованием яванских макак.

[0075] На фиг. 8А представлено изменение уровня сывороточного IgM у обезьяны.

[0076] На фиг. 8В представлено изменение уровня сывороточного IgA у обезьяны.

[0077] На фиг. 8С представлено изменение уровня сывороточного альбумина у обезьяны.

[0078] На фиг. 9 представлены однократные и многократные дозы RVT-1401 (HL161BKN) у здоровых индивидуумов после подкожного (п/к) или внутривенного (в/в) введения (N = RVT-1401:плацебо).

[0079] На фиг. 10А-10В показан средний профиль концентрация-время у здоровых индивидуумов при в/в и п/к введении однократной дозы RVT-1401 (фиг. 10А: в/в; ФИГ. 10В: п/к).

[0080] На фиг. 11А-11В показан средний профиль концентрация-время у здоровых индивидуумов после еженедельного п/к введения RVT-1401 в дозе 340 мг или 680 мг (фиг. 11А: линейный график; ФИГ. 11В: полулогарифмический график).

[0081] На фиг. 12 представлен профиль концентрация-время для сывороточного IgG у здоровых индивидуумов после еженедельного п/к введения RVT-1401 в дозе 340 мг или 680 мг.

[0082] На фиг. 13А представлен процент (%) снижения сывороточного IgG от исходного уровня у здоровых людей после однократного в/в введения RVT-1401 (340 мг, 765 мг, 1530 мг) или плацебо. Стрелка указывает время введения RVT-1401. На фиг. 13В представлен процент (%) снижения сывороточного IgG от исходного уровня у здоровых людей после п/к введения однократной дозы RVT-1401 (340 мг, 765 мг) или плацебо. Стрелка указывает время введения RVT-1401.

[0083] На фиг. 14А-14Е показан процент (%) снижения сывороточного IgG (общего и подкласса) от исходного уровня у здоровых индивидуумов после многократного п/к введения RVT-1401 (340 мг, 680 мг) или плацебо. Стрелками указано время введения RVT-1401 (1 раз в неделю × 4 недели).

[0084] На фиг. 14А представлен процент (%) снижения сывороточного IgG (общего) от исходного уровня у здоровых людей после многократного п/к введения RVT-1401 (340 мг, 680 мг) или плацебо.

[0085] На фиг. 14В представлен процент (%) снижения сывороточного IgG1 от исходного уровня у здоровых людей после многократного п/к введения RVT-1401 (340 мг, 680 мг) или плацебо.

[0086] На фиг. 14С представлен процент (%) снижения сывороточного IgG2 от исходного уровня у здоровых людей после многократного п/к введения RVT-1401 (340 мг,

680 мг) или плацебо.

[0087] На фиг. 14D представлен процент (%) снижения сывороточного IgG3 от исходного уровня у здоровых людей после многократного п/к введения RVT-1401 (340 мг, 680 мг) или плацебо.

[0088] На фиг. 14E представлен процент (%) снижения сывороточного IgG4 от исходного уровня у здоровых людей после многократного п/к введения RVT-1401 (340 мг, 680 мг) или плацебо.

[0089] На фиг. 15 представлен дизайн нерандомизированного открытого исследования для оценки безопасности, переносимости, ФК, ФД и эффективности RVT-1401 (680 мг еженедельно и 340 мг еженедельно) у пациентов с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией (т-АИГА). Пациентов с диагнозом т-АИГА лечат один раз в неделю п/к инъекциями RVT-1401: режим дозирования А (680 мг еженедельно в течение двенадцати недель (Когорта 1)) и режим дозирования В (340 мг еженедельно в течение 12 недель (Когорта 2)). Режим дозирования А (680 мг еженедельно) вводят в виде двух п/к инъекций в неделю, а режим дозирования В (340 мг еженедельно) вводят в виде однократной п/к инъекции в неделю. Звездочки (***) указывают на то, что когорта 1 зачислена первой, за ней следует когорта 2.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

[0090] Чтобы раскрытие было более понятным, некоторые термины определены на всем протяжении подробного описания. Если не определено иначе в настоящем документе, все научные и технические термины, используемые в связи с настоящим раскрытием, имеют то же значение, в котором их обычно понимают специалисты в данной области. Все цитируемые в настоящем документе ссылки также включены посредством ссылок для любых целей. В тех случаях, когда цитируемая ссылка противоречит настоящему раскрытию, описание имеет преимущественную силу.

[0091] Как применяют в настоящем документе, формы единственного числа слова также включают форму множественного числа, если из контекста явно не следует; например, термины «а», «an» и «the» понимают как единственное или множественное число. В качестве примера, «элемент» означает один или несколько элементов. Термин «или» означает «и/или», если в конкретном контексте не указано иное. Все диапазоны, в том числе указанные в форме «между значением X и значением Y», включают конечные точки и все промежуточные точки, если в конкретном контексте не указано иное.

[0092] В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к способу лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии путем введения антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента, или путем введения

фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, один фармацевтический приемлемый носитель и антитело к FcRn или его антигенсвязывающий фрагмент, пациенту, нуждающемуся в лечении. В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к применению антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента в способе лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии путем введения антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента, или путем введения фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, один фармацевтический приемлемый носитель и антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент, пациенту, нуждающемуся в лечении. В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к применению антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента в производстве лекарственного средства для лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии. В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к антителу к FcRn или его антигенсвязывающему фрагменту для применения в способе лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии. Также раскрыты фармацевтические композиции, содержащие антитело к FcRn или его антигенсвязывающий фрагмент и, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель, для применения в терапевтических способах и применениях, описываемых в настоящем документе.

[0093] Как применяют в настоящем документе, термин «лечить» и родственные ему термины относятся к улучшению заболевания, нарушения или состояния (например, тепловой аутоиммунной гемолитической анемии), или, по меньшей мере, одного их заметного симптома (например, любого одного или нескольких признаков и симптомов, описываемых в настоящем документе). Термин «лечить» включает в качестве неограничивающих примеров полное лечение или полное улучшение состояния одного или нескольких симптомов тепловой аутоиммунной гемолитической анемии. В некоторых вариантах осуществления «лечение» означает, по меньшей мере, частичное улучшение состояния, по меньшей мере, одного измеримого физического параметра, не обязательно различимого пациентом, например, снижение уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, патогенного IgG) и/или уровня общего сывороточного IgG, или повышение уровня гемоглобина. В некоторых вариантах осуществления «лечение» относится к прекращению прогрессирования тепловой аутоиммунной гемолитической анемии, либо физически (например, стабилизация явного симптома), либо физиологически (например, стабилизация физического параметра), либо обоими путями. В некоторых вариантах осуществления «лечение» означает замедление прогрессирования или обращение вспять прогрессирования тепловой аутоиммунной

гемолитической анемии. Как применяют в настоящем документе, термин «лечить» и родственные ему термины также включают отсрочку начала или снижение риска развития тепловой аутоиммунной гемолитической анемии. Антитела, антигенсвязывающие фрагменты и фармацевтические композиции, описываемые в настоящем документе, также можно использовать для профилактики или предотвращения тепловой аутоиммунной гемолитической анемии. Например, профилактический способ может предусматривать введение индивидууму с риском развития тепловой аутоиммунной гемолитической анемии антитела, антигенсвязывающего фрагмента или фармацевтической композиции, описываемых в настоящем документе, для предотвращения или снижения вероятности развития тепловой аутоиммунной гемолитической анемии, или, по меньшей мере, одного заметного ее симптома. В некоторых вариантах осуществления заболевание, нарушение или состояние, требующее лечения, представляет собой тепловую аутоиммунную гемолитическую анемию.

[0094] Термины «индивидуум» и «пациент» используют в настоящем документе взаимозаменяемо для обозначения любого человека или не являющегося человеком животного. К не являющимся человеком животным относятся все позвоночные (например, млекопитающие и не млекопитающие), такие как любое млекопитающее. Неограничивающие примеры млекопитающих включают людей, мышей, крыс, кроликов, собак, обезьян и свиней. В различных вариантах осуществления индивидуум является человеком. В различных вариантах осуществления индивидуумом является человек с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией или сподозрением на нее.

[0095] Как применяют в настоящем документе, термин «тепловая аутоиммунная гемолитическая анемия» или «т-АИГА» относится к аутоиммунному состоянию, определяемому наличием аутоантител, которые прикрепляются к эритроцитам и разрушает их (с активацией комплемента или без нее) при температуре, равной или большей чем нормальная температура тела. Тепловая аутоиммунная гемолитическая анемия также может быть обозначена как гемолитическая анемия с тепловыми антителами, идиопатическая гемолитическая анемия с тепловыми антителами, аутоиммунная гемолитическая анемия с тепловыми антителами, и/или болезнь тепловой реакции антител. Как правило, антитела при тепловой аутоиммунной гемолитической анемии оптимально реагируют при 37° Цельсия. Наиболее распространенным изотипом антитела, вовлеченным в тепловую аутоиммунную гемолитическую анемию, является IgG, с большей распространенностью IgG1 и IgG3 (Kalfa, Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program 2016(1):690-7, 2016). Внутрисосудистое разрушение эритроцитов через механизмы, опосредованные комплементом, представляет лишь незначительный процент при тепловой аутоиммунной

гемолитической анемии у пациентов. У большинства пациентов эритроциты, покрытые IgG, реагирующими на тепло, связываются с селезеночными макрофагами через FcRn, что может привести к их фагоцитозу или удалению части их мембраны в селезенке. В последнем случае такие эритроциты могут образовывать микросфероциты, которые затем подвергаются дальнейшей деструкции при их следующем прохождении через селезенку (Kalfa, Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program 2016(1):690-7, 2016). CD8+ Т-клетки и естественные киллеры (NK-клетки) также могут способствовать лизису эритроцитов за счет цитотоксичности, опосредованной антителозависимыми клетками (ADCC).

[0096] Клинические проявления т-АИГА, как правило, характеризуются усталостью, одышкой при физической нагрузке, бледностью и спленомегалией. Общие лабораторные данные в качестве неограничивающих примеров включают снижение гемоглобина (Hb), ретикулоцитоз, повышение уровня неконъюгированного билирубина и лактатдегидрогеназы, сывороточная аспартатаминотрансфераза непропорционально выше, чем сывороточная аланинаминотрансфераза, и снижение гаптоглобина (Kalfa, Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program 2016). (1):690-7, 2016). Признаки и симптомы тепловой аутоиммунной гемолитической анемии могут в качестве неограничивающих примеров включать аномальную бледность кожи (бледность), усталость, затрудненное дыхание при физической нагрузке, головокружение, сердцебиение, пожелтение кожи и/или белков глаз (желтуха), увеличение селезенки (спленомегалия) и увеличение печени (гепатомегалия). Болеющие индивидуумы, особенно лица с постепенным началом анемии, также могут быть бессимптомными и не проявлять каких-либо признаков или симптомов. Диагностика тепловой аутоиммунной гемолитической анемии может включать тщательное клиническое обследование, подробный анамнез пациента, выявление характерных симптомов и/или различные анализы, например, анализы крови, измеряющие гемоглобин и/или гематокрит. Тесты на кровь также могут показать повышенный уровень билирубина в крови и/или повышенный уровень незрелых эритроцитов (ретикулоцитов), что может произойти, когда организм вынужден вырабатывать дополнительные эритроциты, чтобы компенсировать преждевременно разрушенные эритроциты. Кроме того, можно проводить специализированные тесты, такие как тесты Кумбса и/или дитиотрейтоловый (ДТТ). Тест Кумбса можно использовать для выявления антител, которые действуют против эритроцитов. Для теста Кумбса в некоторых вариантах осуществления берут образец крови, а затем подвергают воздействию реагента Кумбса. На положительный тест Кумбса указывает сгущение или агрегация эритроцитов в присутствии реагента. Также можно проводить тест с ДТТ, например, для того, чтобы отличить тепловую аутоиммунную гемолитическую анемию, вызванную аутоантителами IgM, от более распространенной

формы, вызываемой аутоантителами IgG, поскольку ДТТ обычно реагирует с IgM, но не с IgG.

[0097] В некоторых вариантах осуществления пациента, нуждающегося в лечении или получающего лечение по поводу тепловой аутоиммунной гемолитической анемии, оценивают с использованием оценочной шкалы, например, любой из оценочных шкал, описываемых в настоящем документе.

[0098] В некоторых вариантах осуществления пациента, нуждающегося в лечении или получающего лечение по поводу тепловой аутоиммунной гемолитической анемии, оценивают с использованием шкалы функциональной оценки Терапия хронического состояния-Усталость (FACIT-F). Шкала FACIT-F представляет собой утвержденную шкалу, которая измеряет физические, эмоциональные и социальные последствия усталости, одного из основных клинических проявлений тепловой аутоиммунной гемолитической анемии (Acaster et al., *Health Qual. Life Outcomes* 13(1):60-9, 2015; Webster et al., *Health Qual. Life Outcomes* 1(79):1-7, 2003). Баллы варьируются от 0 до 52, где более высокий балл указывает на более высокое качество жизни. Оценка менее 30 обычно указывает на сильную усталость.

[0099] В некоторых вариантах осуществления пациента, нуждающегося в лечении или получающего лечение по поводу тепловой аутоиммунной гемолитической анемии, оценивают с использованием шкалы одышки Медицинского исследовательского совета (MRC). Шкала одышки MRC представляет собой опросник, который состоит из пяти утверждений о восприятии одышки. Шкала направлена на количественную оценку инвалидности, связанной с одышкой, а не на тяжесть одышки (Stenton, *Occupational Med.* 58:226-7, 2008). Эта шкала претерпела доработки до текущей модифицированной индивидуальной версии MRC в пределах от степени 0 (ограничено отсутствием инвалидности) до степени 4 (тяжелая инвалидность). Эта шкала была использована для пациентов с хроническим обструктивным заболеванием легких (ХОБЛ) и дополнительно стратифицирована для пациентов с низким уровнем гемоглобина, чтобы продемонстрировать, что у пациентов ХОБЛ с анемией может быть значительно более высокий MRC (Ferrari et al., *BMC Pulm. Med.* 15:58, 2015). Шкалу можно использовать самостоятельно, попросив пациентов выбрать фразу, которая лучше всего описывает их состояние. Балл представляет собой число, которое лучше всего соответствует уровню активности пациента.

[0100] В некоторых вариантах осуществления пациента, нуждающегося в лечении или получающего лечение по поводу тепловой аутоиммунной гемолитической анемии, оценивают с использованием шкалы EQ-5D-3L. EQ-5D-3L представляет собой

валидированное измерение качества жизни, связанного со здоровьем (Devlin et al., Health Econ. 27(1):7-22, 2018; Hernandez et al., EEPRU Report: «Quality review of a proposed EQ-5D-3L value set for England» [онлайн]). Шкала состоит из двух компонентов, описательной системы EQ-5D и визуальной аналоговой шкалы EQ VAS. Описательная система оценивает подвижность, самообслуживание, обычную деятельность, боль/дискомфорт и тревожность/депрессию. Пациенты могут использовать шкалу самостоятельно, выбирая наиболее подходящее утверждение в каждой категории. Более низкий балл соответствует лучшему качеству жизни. EQ VAS регистрирует самооценку здоровья пациента по вертикальной визуальной аналоговой шкале, где конечные точки обозначены как «Наилучшее вообразимое состояние здоровья» (100) и «Наихудшее вообразимое состояние здоровья» (0). Пациент может выбрать любое число от 0 до 100.

[0101] В некоторых вариантах осуществления у пациента, нуждающегося в лечении тепловой аутоиммунной гемолитической анемии, проявляются один или несколько признаков и симптомов тепловой аутоиммунной гемолитической анемии (например, бледность, усталость, желтуха и/или увеличение селезенки) и/или лечащим врачом поставлен диагноз любой формы заболевания. В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в лечении тепловой аутоиммунной гемолитической анемии (или образец от пациента), имеет определяемый уровень IgG к эритроцитам (антиэритроцитарный IgG), т. е. IgG, способный связываться, по меньшей мере, с одним эритроцитом. В некоторых вариантах осуществления антиэритроцитарный IgG действует и/или вносит вклад в патогенез заболевания путем связывания комплемента (CF). В некоторых вариантах осуществления антиэритроцитарный IgG действует и/или вносит вклад в патогенез заболевания путем вовлечения одного или нескольких Fc-рецепторов (например, активация врожденной иммунной системы пациента, включая, например, высвобождение цитокина и/или фагоцитоз). В некоторых вариантах осуществления антиэритроцитарный IgG действует и/или вносит вклад в патогенез заболевания путем активации врожденной иммунной системы пациента, включая, например, высвобождение цитокина и/или фагоцитоз. В некоторых вариантах осуществления антиэритроцитарный IgG присутствует в крови пациента. В некоторых вариантах осуществления антиэритроцитарный IgG представляет собой антиэритроцитарный IgG1. В некоторых вариантах осуществления антиэритроцитарный IgG представляет собой антиэритроцитарный IgG2. В некоторых вариантах осуществления антиэритроцитарный IgG представляет собой антиэритроцитарный IgG3. В некоторых вариантах осуществления антиэритроцитарный IgG представляет собой антиэритроцитарный IgG4.

[0102] Одним из вариантов осуществления является способ лечения или

профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у нуждающегося в этом пациента, предусматривающий введение пациенту (i) терапевтически эффективного количества антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента; или (ii) фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, один фармацевтический приемлемый носитель и терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0103] Другим вариантом осуществления является антитело к FcRn или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в способе лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у нуждающегося в этом пациента, способ, предусматривающий введение пациенту (i) терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, или (ii) фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, один фармацевтический приемлемый носитель и терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0104] Другим вариантом осуществления является применение антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента в способе лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у нуждающегося в этом пациента, предусматривающем введение пациенту (i) терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, или (ii) фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, один фармацевтический приемлемый носитель и терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0105] Другим вариантом осуществления является применение антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента в производстве лекарственного средства для лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у нуждающегося в этом пациента.

[0106] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент действует как неконкурентный ингибитор IgG при связывании с FcRn. В различных вариантах осуществления связывание антитела или антигенсвязывающего фрагмента с FcRn ингибирует связывание, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела с FcRn. В различных вариантах осуществления такое ингибирование способствует клиренсу (т.е. удалению), по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела из организма человека. В различных вариантах осуществления такое ингибирование сокращает время полужизни, по меньшей мере, одного

аутоантитела и/или патогенного антитела. В различных вариантах осуществления такое ингибирование снижает уровень, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела у индивидуума и/или в образце от индивидуума. В различных вариантах осуществления снижение уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела приводит к улучшению и/или коррелирует с улучшением, по меньшей мере, одного клинического параметра тепловой аутоиммунной гемолитической анемии.

[0107] Как применяют в настоящем документе, термин «аутоантитело» относится к антителу, продуцируемому иммунной системой организма, которое направлено против одного или нескольких собственных белков, тканей и/или органов организма. Например, одно или несколько аутоантител могут быть произведены иммунной системой пациента, когда она не может различить «свое» и «чужое». В некоторых вариантах осуществления аутоантитело представляет собой патогенное антитело (например, патогенный IgG, например, патогенный IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4). Термин «патогенное антитело», используемый в настоящем документе, указывает на антитело (например, аутоантитело), которое способствует патогенезу и/или вызывает одно или несколько заболеваний, нарушений или состояний (например, тепловую аутоиммунную гемолитическую анемию).

[0108] В некоторых вариантах осуществления патогенное антитело представляет собой патогенный IgG (например, патогенный IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4). В некоторых вариантах осуществления патогенное антитело и/или патогенный IgG представляет собой IgG против эритроцитов (антиэритроцитарный IgG).

[0109] В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело является аутоантителом, способным связываться с эритроцитом (ККК) (т.е., по меньшей мере, с одним эритроцитарным антигеном). В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело представляет собой IgG против эритроцитов (антиэритроцитарный IgG). В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело представляет собой IgG1 против эритроцитов (антиэритроцитарный IgG1). В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело представляет собой IgG2 против эритроцитов (антиэритроцитарный IgG2). В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело представляет собой IgG3 против эритроцитов (антиэритроцитарный IgG3). В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело представляет собой IgG4 против эритроцитов (антиэритроцитарный IgG4). В некоторых вариантах осуществления лечение пациента антителом, антигенсвязывающим фрагментом или фармацевтической композицией, описываемыми в настоящем документе, например, с использованием способа, описываемого в настоящем документе, снижает уровень

антиэритроцитарного IgG (например, антиэритроцитарного IgG1, антиэритроцитарного IgG1, антиэритроцитарного IgG2, антиэритроцитарного IgG3 и/или антиэритроцитарного IgG4, по меньшей мере, приблизительно на 20%, приблизительно на 25%, приблизительно на 30%, приблизительно на 35%, приблизительно на 40%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, т.е., относительно уровня антиэритроцитарного IgG до лечения.

[0110] В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело представляет собой IgG, IgM, IgA, IgD или IgE. В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело представляет собой IgG (например, патогенный IgG). В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело представляет собой IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело представляет собой IgG1 (например, патогенный IgG1, например, антиэритроцитарный IgG1). В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело представляет собой IgG2 (например, патогенный IgG2, например, антиэритроцитарный IgG2). В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело представляет собой IgG3 (например, патогенный IgG3, например, антиэритроцитарный IgG3). В некоторых вариантах осуществления аутоантитело и/или патогенное антитело представляет собой IgG4 (например, патогенный IgG4, например, антиэритроцитарный IgG4). В некоторых вариантах осуществления аутоантитело является патогенным антителом.

[0111] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент может неконкурентно ингибировать связывание, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, например, по меньшей мере, одного IgG) с FcRn при физиологическом pH (т.е., pH 7,0-7,4). Без связи с какой-либо теорией, полагают, что FcRn связывается со своим лигандом (т.е., IgG) и по существу не проявляет аффинности к IgG при физиологическом pH, в отличие от кислого pH. Таким образом, в различных вариантах осуществления при физиологическом pH, антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент может действовать как неконкурентный ингибитор связывания IgG с FcRn, и на связывание антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента с FcRn не влияет присутствие IgG. Таким образом, в различных вариантах осуществления антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с FcRn неконкурентно с IgG pH-независимым образом, имеют преимущество перед общепринятыми конкурентными ингибиторами (т.е. антителами, которые связываются с FcRn конкурентно с IgG) в том смысле, что они могут оказывать терапевтический или профилактический эффект даже при значительно низкой

концентрации посредством FcRn-опосредованной передачи сигналов IgG. Кроме того, в различных вариантах осуществления в процессе внутриклеточной миграции в состоянии, связанном с FcRn, антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент может сохранять свое связывание с FcRn с аффинностью выше, чем IgG в крови. Таким образом, в различных вариантах осуществления антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент может ингибировать связывание IgG с FcRn даже в эндосомах, имеющих кислый pH среды, в которой IgG может связываться с FcRn, способствуя тем самым клиренсу IgG. В различных вариантах осуществления антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент представляет собой фрагмент RVT-1401 (также обозначаемый в настоящем документе как HL161BKN). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент представляет собой RVT-1401 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит три аминокислотных последовательности CDR тяжелой цепи из SEQ ID No: 27 (HCDR1), SEQ ID No: 28 (HCDR2), SEQ ID No: 29 (HCDR3); и три аминокислотных последовательности CDR легкой цепи из SEQ ID No: 30 (LCDR1), SEQ ID No: 31 (LCDR2), SEQ ID No: 32 (LCDR3). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность варибельной области тяжелой цепи из SEQ ID No: 6 и аминокислотную последовательность варибельной области легкой цепи из SEQ ID No: 16. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи из SEQ ID No: 46; и аминокислотную последовательность легкой цепи из SEQ ID No: 48.

[0112] «Аффинность» связывания относится к силе взаимодействия между антителом и антигеном в отдельных антигенных участках. Внутри каждого антигенного участка варибельная область «плеча» антитела взаимодействует посредством слабых нековалентных сил с антигеном в многочисленных участках. В общем, чем больше взаимодействий, тем выше аффинность.

[0113] Как применяют в настоящем документе, термины «специфический», «специфически связывает» и «связывается специфически» относятся к реакции связывания между антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (например, антителом к FcRn или его антигенсвязывающим фрагментом) и антигеном-мишенью (например, FcRn) в гетерогенной популяции белков и других биопрепаратов. Антитела можно тестировать на специфичность связывания, сравнивая связывание с соответствующим антигеном со связыванием с альтернативным антигеном или смесью антигенов при заданном наборе условий. Если антитело связывается с соответствующим антигеном, по меньшей мере, в 2

раза, по меньшей мере, в 5 раз или, по меньшей мере, в 10 раз (или более) с большей аффинностью, чем с альтернативным антигеном или смесью антигенов, то оно считается специфическим.

[0114] «Специфическое антитело» или «мишень-специфическое антитело» представляет собой антитело, которое связывает только антиген-мишень (например, FcRn), но не связывается (или проявляет минимальное связывание) с другими антигенами. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с антигеном-мишенью (например, FcRn), имеет K_D менее чем 1×10^{-6} М, менее чем 1×10^{-7} М, менее чем 1×10^{-8} М, менее чем 1×10^{-9} М, менее чем 1×10^{-10} М, менее чем 1×10^{-11} М, менее чем 1×10^{-12} М, или менее чем 1×10^{-13} М при pH 6,0 или pH 7,4. В некоторых вариантах осуществления K_D составляет приблизительно от 0,01 нМ до приблизительно 2 нМ при pH 6,0 или pH 7,4. В некоторых вариантах осуществления K_D составляет приблизительно от 300 пМ или меньше до приблизительно 2 нМ или меньше при pH 7,4. В некоторых вариантах осуществления K_D составляет приблизительно от 2 нМ или меньше до 900 пМ или меньше при pH 6,0.

[0115] Как применяют в настоящем документе, термин « K_D » относится к равновесной константе диссоциации для связывания антитело-антиген, которую получают из отношения k_d к k_a (т.е., k_d/k_a) и обычно выражают в виде молярной концентрации (М). Термин « k_{assoc} » или « k_a » относится к скорости ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген, тогда как термин « k_{dis} » или « k_d » относится к скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Измерение k_d и/или k_a можно проводить при 25 или 37 . Значения K_D для антител и антигенсвязывающих фрагментов можно определить, используя данные, хорошо известные в данной области (см., например, Pollard, Mol. Biol. Cell 21(23):4061-7, 2010). В некоторых вариантах осуществления K_D измеряют путем прямого связывания и/или конкурентного анализа связывания (например, поверхностным плазмонным резонансом и/или конкурентным анализом ИФА). В некоторых вариантах осуществления K_D измеряют путем поверхностного плазмонного резонанса (например, поверхностного плазмонного резонанса с иммобилизованным человеческим FcRn). В некоторых вариантах осуществления K_D антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента, описываемого в настоящем документе, измеряют путем поверхностного плазмонного резонанса с иммобилизованным человеческим FcRn.

[0116] В некоторых вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент имеет K_D (константу диссоциации) приблизительно от 0,01 нМ до 2 нМ при pH 6,0 и pH 7, 4, как определено, например, путем поверхностного

плазмонного резонанса. В некоторых вариантах осуществления антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент имеет K_D приблизительно от 300 пМ или меньше до приблизительно 2 нМ или меньше при pH 7,4 и/или имеет K_D приблизительно от 2 нМ или меньше до приблизительно 900 пМ или меньше при pH 6,0, что определяют, например, путем поверхностного плазмонного резонанса. В некоторых вариантах осуществления антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент связывается с внешней стороной клеток и при связывании сохраняет связывание в эндосомах. В некоторых вариантах осуществления антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент эффективно блокирует связывание одного или нескольких аутоантител с FcRn (например, FcRn человека), что определяют, например, анализом блокирования, выполненным с использованием клеток, экспрессирующих FcRn человека, и FACS.

[0117] Как применяют в настоящем документе, термин «антитело к FcRn» или «антитело, которое специфически связывается с FcRn» относится к любой форме антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с FcRn, например, к тем, которые связываются с K_D менее чем 2 нМ при pH 6,0 или pH 7,4, что определяют, например, путем поверхностного плазмонного резонанса (например, поверхностного плазмонного резонанса с иммобилизованным человеческим FcRn). Термин включает моноклональные антитела (включая полноразмерные моноклональные антитела), поликлональные антитела и биологически функциональные фрагменты при условии, что они специфически связываются с FcRn.

[0118] В некоторых вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

[0119] CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична одной или нескольким аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID No: 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39 и 42;

[0120] CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична одной или нескольким аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID No: 22, 25, 28, 31, 34, 37, 40 и 43; и

[0121] CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична одной или нескольким аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID No: 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41 и 44.

[0122] В некоторых вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

[0123] CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 91%, по меньшей мере, на 92%, по меньшей мере, на 93%, по меньшей мере, на 94%, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 96%, по меньшей мере, на 97%, по меньшей мере, на 98%, или, по меньшей мере, на 99% идентична одной или нескольким аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID No: 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39 и 42;

[0124] CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 91%, по меньшей мере, на 92%, по меньшей мере, на 93%, по меньшей мере, на 94%, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 96%, по меньшей мере, на 97%, по меньшей мере, на 98%, или по меньшей мере, на 99% идентична одной или нескольким аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID No: 22, 25, 28, 31, 34, 37, 40 и 43; и

[0125] CDR3, содержащая аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 91%, по меньшей мере, на 92%, по меньшей мере, на 93%, по меньшей мере, на 94%, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 96%, по меньшей мере, на 97%, по меньшей мере, на 98%, или по меньшей мере, на 99% идентична одной или нескольким аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID No: 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41 и 44.

[0126] В некоторых вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент может содержать одну или несколько аминокислотных делеций, вставок или замен в аминокислотных последовательностях, описываемых в настоящем документе.

[0127] В некоторых вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент может содержать аминокислотные последовательности идентичные или характеризующиеся гомологией с аминокислотными последовательностями, описываемыми в настоящем документе. Термин «идентичность» или «гомология» относится к взаимосвязи между последовательностью двух или более полипептидов, определяемой путем сравнения последовательностей. Термин «идентичность» также означает степень родства последовательностей между полипептидами, определяемую количеством совпадений между цепочками из двух или

более аминокислотных остатков. Процент «идентичности» между двумя последовательностями является функцией количества одинаковых положений, общих для последовательностей (т.е., процент идентичности равен количеству идентичных положений/общему количеству положений $\times 100$), с учетом количества пропусков и длину каждого пропуска, которые необходимо ввести для оптимального выравнивания двух последовательностей. Сравнение последовательностей и определение процента идентичности между двумя последовательностями можно проводить с помощью математического алгоритма. Для сравнения последовательностей, как правило, одна последовательность выступает в качестве референсной последовательности, с которой сравнивают тестовую последовательность. При использовании алгоритма сравнения последовательностей в компьютер вводят тестовую и референсную последовательности, при необходимости указывают координаты подпоследовательности и программные параметры алгоритма последовательности. Можно использовать параметры программы по умолчанию или можно указать альтернативные параметры. Алгоритм сравнения последовательностей затем вычисляет процент идентичности последовательности для тестовой последовательности относительно референсной последовательности, основываясь на параметрах программы. Дополнительно, или альтернативно, аминокислотные последовательности, описываемые в настоящем документе, могут быть дополнительно использованы в качестве «последовательности по запросу» для выполнения поиска по общедоступной базе данных, чтобы, например, идентифицировать родственные последовательности. Например, такие поиски можно проводить с помощью программы BLAST Altschul et al. (J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990).

[0128] Две последовательности являются «по существу идентичными», если две последовательности имеют определенное процентное содержание аминокислотных остатков, которые являются одинаковыми (т.е., идентичность 60%, необязательно 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности по указанной области или, если не указано, по всей последовательности), при сравнении и выравнивании для максимального соответствия по сравнению в окне сравнения, или в обозначенной области, измеренное с помощью одного из следующих алгоритмов сравнения последовательностей или путем ручного выравнивания и визуального осмотра. Необязательно, идентичность существует в области, длина которой, по меньшей мере, приблизительно 10 аминокислот, или в области, длина которой составляет приблизительно 20, 50, 200 или более аминокислот. В некоторых вариантах осуществления антитела к FcRn и антигенсвязывающие фрагменты, описываемые в настоящем документе, содержат, по меньшей мере, одну аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична последовательности,

выбранной из группы, состоящей из SEQ ID No: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 и 20-48. В некоторых вариантах осуществления антитела к FcRn и антигенсвязывающие фрагменты, описываемые в настоящем документе, содержат, по меньшей мере, одну аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 91%, по меньшей мере, на 92%, по меньшей мере, на 93%, по меньшей мере, на 94%, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 96%, по меньшей мере, на 97%, по меньшей мере, на 98%, или, по меньшей мере, на 99% идентична последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID No: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 и 20-48.

[0129] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую:

[0130] CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 21, CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 22, и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 23;

[0131] CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 27, CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 28, и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 29;

[0132] CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 33, CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 34, и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 35; или

[0133] CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 39, CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 40, и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 41.

[0134] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую:

[0135] CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 24, CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 25, и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 26;

[0136] CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 30, CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 31, и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 32;

[0137] CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 36, CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 37, и CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 38; или

[0138] CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 42, CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 43, и CDR3,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 44.

[0139] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит одну или несколько переменных областей тяжелой цепи и одну или несколько переменных областей легкой цепи, выбранных из группы, состоящей из:

переменной области тяжелой цепи, содержащей CDR1, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 21 (HCDR1), CDR2, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 22 (HCDR2), и CDR3, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 23 (HCDR3); и переменной области легкой цепи, содержащей CDR1, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 24 (LCDR1), CDR2, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 25 (LCDR2), и CDR3, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 26 (LCDR3);

переменной области тяжелой цепи, содержащей CDR1, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 27 (HCDR1), CDR2, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 28 (HCDR2), и CDR3, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 29 (HCDR3); и переменной области легкой цепи, содержащей CDR1, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 30 (LCDR1), CDR2, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 31 (LCDR2), и CDR3, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 32 (LCDR3);

переменной области тяжелой цепи, содержащей CDR1, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 33 (HCDR1), CDR2, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 34 (HCDR2), и CDR3, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 35 (HCDR3); и переменной области легкой цепи, содержащей CDR1, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 36 (LCDR1), CDR2, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 37 (LCDR2), и CDR3, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 38 (LCDR3); и

переменной области тяжелой цепи, содержащей CDR1, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 39 (HCDR1), CDR2, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 40 (HCDR2), и CDR3, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 41 (HCDR3); и переменной области легкой цепи, содержащей CDR1, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 42 (LCDR1), CDR2, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID No: 43 (LCDR2), и CDR3, которая содержит аминокислотную последовательность

SEQ ID No: 44 (LCDR3).

[0140] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит одну или несколько переменных областей тяжелой цепи и/или одну или несколько переменных областей легкой цепи, содержащих одну или несколько аминокислотных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID No: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 и 20.

[0141] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 2, 4, 6, 8 или 10, и/или переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 12, 14, 16, 18 или 20.

[0142] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит одну или несколько переменных областей тяжелой цепи и одну или несколько переменных областей легкой цепи, выбранных из группы, состоящей из:

переменной области тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID No: 2, и переменной области легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID No: 12;

переменной области тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID No: 4, и переменной области легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID No: 14;

переменной области тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID No: 6, и переменной области легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID No: 16;

переменной области тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID No: 8, и переменной области легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID No: 18; и

переменной области тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID No: 10, и переменной области легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID No: 20.

[0143] Термины «фрагмент», «фрагмент антитела» и «антигенсвязывающий фрагмент», используемые в настоящем документе по отношению к антителу, все относятся к одному или нескольким фрагментам полноразмерного антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном-мишенью (например, FcRn) и/или обеспечивают функцию полноразмерного антитела (например, неконкурентное вмешательство при связывании IgG с FcRn). Антигенсвязывающие фрагменты также могут присутствовать в более крупных макромолекулах, например, в биспецифических,

триспецифических и полиспецифических антителах. Примеры антигенсвязывающих фрагментов в качестве неограничивающих примеров включают одноцепочечные антитела, биспецифические, триспецифические и полиспецифические антитела, такие как диатела, триотела и тетратела, фрагменты Fab, фрагменты F(ab')₂, Fd, scFv, доменные антитела, антитела с двойной специфичностью, миниантитела, scar (белок, активирующий расщепление регуляторного белка, связывающегося со стеролом), хелатирующие рекомбинантные антитела, тритела или битела, интраантитела, нанотела, иммунофармацевтическое средство на основе модульного белка малого размера (SMIP), слитые белки со связывающими доменами иммуноглобулина, верблюжки антитела, VHH-содержащие антитела, антитела IgD, антитела IgE, антитела IgM, антитела IgG1, антитела IgG2, антитела IgG3, антитела IgG4, производные константной области антител и синтетические антитела на основе белковых каркасов, обладающих способностью связываться с FcRn. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент проявляет те же или подобные свойства, что и полноразмерное антитело. Без ограничений, антигенсвязывающий фрагмент можно получать любым способом, известным в данной области. Например, различные антигенсвязывающие фрагменты, описываемые в настоящем документе, могут быть получены путем ферментативной или химической модификации полноразмерного антитела, синтезировать *de novo* с использованием способов рекомбинантной ДНК (например, scFv) или идентифицировать с использованием библиотек фагового дисплея (см., например, Pini и Bracci, *Curr. Protein Pept. Sci.* 1(2):155-69, 2000). Антигенсвязывающие фрагменты могут быть проверены на применимость (например, специфичность, аффинность связывания, активность) таким же образом, как полноразмерные антитела.

[0144] Кроме того, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, имеющие мутацию в варибельной и/или в константной области можно использовать в терапевтических способах, применениях и композициях, описываемых в настоящем документе. Примеры таких антител или антигенсвязывающих фрагментов включают в себя антитела, имеющие консервативную замену аминокислотного остатка в варибельной области и/или константной области. Как применяют в настоящем документе, термин «консервативная замена» относится к замене другой аминокислотой, обладающей свойствами, сходными со свойствами исходной аминокислоты. Например, лизин, аргинин и гистидин имеют сходные свойства в том, что они имеют основную боковую цепь, а аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота имеют сходные свойства в том, что они имеют кислую боковую цепь. Кроме того, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин и триптофан имеют сходные свойства в том, что они имеют незаряженную

полярную боковую цепь, и аланин, валин, лейцин, треонин, изолейцин, пролин, фенилаланин и метионин имеют сходные свойства в том, что они имеют неполярную боковую цепь. Кроме того, тирозин, фенилаланин, триптофан и гистидин обладают сходными свойствами в том, что они имеют ароматическую боковую цепь. Таким образом, специалистам в данной области будет очевидно, что даже при замещении аминокислотных остатков в группах, проявляющих сходные свойства, как описано выше, оно, скорее всего, не покажет значительных изменений в свойствах антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

[0145] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент может быть конъюгировано с другим веществом (например, терапевтическим средством или детектируемым веществом). Вещества, которые могут быть конъюгированы или введены в комбинации с антителом или антигенсвязывающим фрагментом, описываемыми в настоящем документе, в качестве неограничивающих примеров включают терапевтические средства, которые обычно используют для лечения тепловой аутоиммунной гемолитической анемии (например, стандартный препарат, например, любой один или несколько стандартных препаратов, описанных и/или включенных посредством ссылки в настоящий документ); вещества, подавляющие активность FcRn; и группы, которые могут быть физически связаны с антителом или антигенсвязывающим фрагментом, например, для улучшения его стабилизации и/или удержания в циркуляции, например, в крови, сыворотке, лимфе или других тканях. Например, антитело или антигенсвязывающий фрагмент могут быть связаны с полимером, например, с неантигенным полимером, таким как полипропиленоксид или полиэтиленоксид. Подходящие полимеры будут существенно варьироваться по массе. Можно использовать полимеры, характеризующиеся средней молекулярной массой приблизительно от 200 до приблизительно 35000 (или приблизительно от 1000 до приблизительно 15000 и от 2000 до приблизительно 12500). Например, антитело или антигенсвязывающий фрагмент может быть конъюгирован с водорастворимыми полимерами, например, гидрофильными поливинилполимерами, например, поливиниловым спиртом и поливинилпирролидоном. Неограничивающие примеры таких полимеров включают полиалкиленоксидные гомополимеры, такие как полиэтиленгликоль (ПЭГ) или полипропиленгликоли, полиоксиэтиленированные полиолы, их сополимеры и их блок-сополимеры, при условии, что сохранена водорастворимость блок-сополимеров.

[0146] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело или

антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID No: 27 (HCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 28 (HCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 29 (HCDR3); и переменную область легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID No: 30 (LCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 31 (LCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 32 (LCDR3).

[0147] В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 6; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 16. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 6; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 16. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 4; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 14. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 4; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 14. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с FcRn с K_D (константа диссоциации) от 0,01 нМ до 2 нМ при pH 6,0 или pH 7,4, при измерении, например, путем поверхностного плазмонного резонанса.

[0148] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 21 (HCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 22 (HCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 23 (HCDR3); и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 24 (LCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 25 (LCDR2) и аминокислотную

последовательность SEQ ID No: 26 (LCDR3).

[0149] В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 2; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 12. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 2; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 12. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с FcRn с K_D от 0,01 нМ до 2 нМ при pH 6,0 или pH 7,4, при измерении, например, путем поверхностного плазмонного резонанса.

[0150] В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи из SEQ ID No: 46 или последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 46. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность легкой цепи из SEQ ID No: 48 или последовательность, которая, по меньшей мере, на 90% идентична SEQ ID No: 48. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи из SEQ ID No: 46 и аминокислотную последовательность легкой цепи из SEQ ID No: 48. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи, которая, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 96%, по меньшей мере, на 97%, по меньшей мере, на 98%, по меньшей мере, на 99% или на 100% идентична SEQ ID No: 46, и аминокислотную последовательность легкой цепи, которая, по меньшей мере, на 95%, по меньшей мере, на 96%, по меньшей мере, на 97%, по меньшей мере, на 98%, по меньшей мере, на 99% или на 100% идентична SEQ ID No: 48.

[0151] RVT-1401 (также обозначаемое в настоящем документе как HL161BKN) представляет собой пример антитела к FcRn. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент представляет собой RVT-1401 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит три аминокислотных последовательности CDR тяжелой цепи из RVT-1401 (HCDR1 (SEQ ID No: 27), HCDR2 (SEQ ID No: 28), HCDR3 (SEQ ID No: 29)); и три аминокислотных последовательности CDR легкой цепи из RVT-1401

(LCDR1 (SEQ ID No: 30), LCDR2 (SEQ ID No: 31), LCDR3 (SEQ ID No: 32)). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи RVT-1401 (SEQ ID No: 6) и аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи RVT-1401 (SEQ ID No: 16). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи RVT-1401 (SEQ ID No: 46) и аминокислотную последовательность легкой цепи RVT-1401 (SEQ ID No: 48).

[0152] В различных вариантах осуществления терапевтических способов и применений, описываемых в настоящем документе, антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят отдельно. В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят в комбинации, по меньшей мере, с одним дополнительным терапевтическим средством. В различных вариантах осуществления, по меньшей мере, одно дополнительное терапевтическое средство может содержать или включать стандартное средство лечения тепловой аутоиммунной гемолитической анемии.

[0153] Введение «в комбинации» или путем «совместного введения», как применяют в настоящем документе, означает, что два или более разных лечения предоставляются индивидууму во время заболевания индивидуума тепловой аутоиммунной гемолитической анемией. Например, в некоторых вариантах осуществления два или более лечения назначаются после того, как у индивидуума был диагностированo заболевание, и до того, как заболевание было излечено или устранено, или когда индивидуум идентифицирован как относящийся к группе риска, но до того, как у индивидуума развились симптомы заболевания. В некоторых вариантах осуществления все еще происходит получение первого лечения, когда начинается введение второго лечения, так что происходит перекрытие. В некоторых вариантах осуществления первое и второе лечение начинают одновременно. Эти типы введения иногда обозначают в настоящем документе как «одновременное», «параллельное» или «сопутствующее» введение. В других вариантах осуществления введение первого лечения заканчивается до того, как начинается введение второго лечения. Этот тип введения иногда называют в настоящем документе «поочередное» или «последовательное» введение. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент и, по меньшей мере, одно дополнительное терапевтическое средство вводят одновременно. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент и, по меньшей мере, одно дополнительное терапевтическое средство вводят последовательно.

[0154] В некоторых вариантах осуществления два вида лечения (например, антитело

к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент и второе терапевтическое средство) содержатся в одной и той же композиции. Такую композицию можно вводить в любой подходящей форме и любым подходящим путем. В других вариантах осуществления два вида лечения (например, антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент и второе терапевтическое средство) вводят в отдельных композициях в любой подходящей форме и любым подходящим путем. Например, композицию, содержащую антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент, и композицию, содержащую второе терапевтическое средство (например, стандартное средство для лечения тепловой аутоиммунной гемолитической анемии), можно вводить одновременно или последовательно в любом порядке в разные моменты времени; в любом случае их следует вводить достаточно близко по времени, чтобы обеспечить желаемый терапевтический или профилактический эффект.

[0155] Термин «средство», применяемый в настоящем документе, относится к химическому соединению, смеси химических соединений, биологической макромолекуле или экстракту, полученному из биологических материалов. Термин «терапевтическое средство» или «лекарственное средство» относится к средству, которое способно модулировать биологический процесс и/или обладает биологической активностью. Антитела к FcRn и антигенсвязывающие фрагменты, описываемые в настоящем документе, являются примерами терапевтических средств.

[0156] Как применяют в настоящем документе, термин «стандартное средство лечения» относится к любому терапевтическому средству или другой форме терапии, которую принимают в качестве надлежащего лечения для определенного типа заболевания (например, тепловой аутоиммунной гемолитической анемии). Термин «стандартная дозировка» или «стандартный режим дозирования», применяемый в настоящем документе, относится к любому обычному или рутинному режиму дозирования для терапевтических средств, например, схеме лечения, предложенной производителем, утвержденной регулирующим органом или иным образом проверенной на людях для удовлетворения потребностей усредненного пациента.

[0157] Одним из примеров стандартного препарата для лечения тепловой аутоиммунной гемолитической анемии является ВВИГ. В некоторых вариантах осуществления стандартный режим дозирования для ВВИГ включает или предусматривает ВВИГ 1 г/кг/сутки в течение двух суток. Другим примером стандартного лечения тепловой аутоиммунной гемолитической анемии является один или несколько кортикостероидов (например, преднизон). В некоторых вариантах осуществления стандартный режим дозирования для одного или нескольких кортикостероидов (например, преднизона) включает или предусматривает преднизон 1,0-1,5 мг/кг/сутки в течение 1-3 недель до

достижения уровня гемоглобина более 10 г/дл, и последующие дозы преднизона медленно снижают с 10-15 мг еженедельно до суточной дозы 20-30 мг, затем по 5 мг каждые 1-2 недели до дозы 15 мг, а затем по 2,5 мг каждые две недели с конечной целью отмены лекарственного средства. Дополнительные стандартные препараты для лечения тепловой аутоиммунной гемолитической анемии, а также стандартные режимы дозирования для таких препаратов опубликованы в данной области и раскрыты, например, в Kalfa, *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2016(1):690-7, 2016; и Zanella and Barcellini, *Haematologica* 99(10):1547-54, 2014, которые оба включены в настоящий документ посредством ссылки для таких средств и режимов дозирования.

[0158] Антитела к FcRn и антигенсвязывающие фрагменты, описываемые в настоящем документе можно вводить в комбинации с любым из иллюстративных стандартных средств лечения, описанных и/или включенных посредством ссылки в настоящий документ.

[0159] В настоящем документе также предлагаются фармацевтические композиции, содержащие антитело к FcRn или его антигенсвязывающий фрагмент, сформулированные вместе, по меньшей мере, с одним фармацевтически приемлемым носителем. Композиции могут также содержать одно или несколько дополнительных терапевтических средств, которые подходят для лечения или профилактики, например, тепловой аутоиммунной гемолитической анемии (например, стандартное средство для лечения тепловой аутоиммунной гемолитической анемии). Способы приготовления фармацевтических композиций и подходящие составы известны в данной области (см., например, "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, PA). Соответствующий состав может зависеть от пути введения.

[0160] Как применяют в настоящем документе, «фармацевтическая композиция» относится к препарату антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента в дополнение к другим компонентам, подходящим для введения пациенту, таким как фармацевтически приемлемый носитель и/или эксципиент. В настоящем документе предлагается фармацевтическая композиция, которая может подходить для введения *in vitro* и/или *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предлагаемая в настоящем документе, находится в такой форме, которая позволяет вводить, а затем обеспечивать предполагаемую биологическую активность активного ингредиента/ингредиентов и/или достигать терапевтического эффекта. Фармацевтическая композиция, предлагаемая в настоящем документе, не содержит дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для индивидуума, которому будут вводить состав.

[0161] Как применяют в настоящем документе, термины «фармацевтически приемлемый носитель» и «физиологически приемлемый носитель», которые могут быть взаимозаменяемыми, относятся к носителю, разбавителю или эксципиенту, который не вызывает значительного раздражения у индивидуума и не отменяет биологическую активность и свойства введенного антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Таким образом, фармацевтически приемлемые носители должны быть совместимы с активными ингредиентами, такими как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и могут включать физиологический раствор, стерильную воду, раствор Рингера, забуференный физиологический раствор, раствор декстрозы, раствор мальтодекстрина, глицерин, этанол, или смесь двух или более из них. Фармацевтически приемлемые носители также могут улучшать или стабилизировать состав, или их можно использовать для облегчения получения композиций. Фармацевтически приемлемые носители могут включать другие общепринятые добавки, такие как антиоксиданты, буферы, растворители, бактериостатические агенты, диспергирующие среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые средства, изотонические средства и замедлители всасывания, и т.п., которые являются физиологически совместимыми. Носитель можно выбирать, чтобы свести к минимуму неблагоприятные побочные эффекты у индивидуума и/или свести к минимуму разрушение активного ингредиента/ингредиентов.

[0162] Как применяют в настоящем документе, термин «эксципиент» относится к инертному веществу, добавляемому в фармацевтическую композицию для дальнейшего облегчения введения активного ингредиента. Составы для парентерального введения могут, например, содержать такие эксципиенты, как стерильная вода или физиологический раствор, полиалкиленгликоли, такие как полиэтиленгликоль, растительные масла или гидрогенизированные нафталены. Другие эксципиенты в качестве неограничивающих примеров включают бикарбонат кальция, фосфат кальция, различные сахара и виды крахмала, производные целлюлозы, желатин, частицы сополимера этилен-винилацетат и поверхностно-активные вещества, включая, например, полисорбат 20.

[0163] В различных вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело к FcRn, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию можно вводить различными известными в данной области способами. Путь и/или способ введения могут варьироваться в зависимости от желаемых результатов. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пероральным, внутривенным, внутримышечным, внутриартериальным, интрамедуллярным, интрадуральным, интракардиальным,

трансдермальным, подкожным, интраперитонеальным, желудочно-кишечным, сублингвальным или местным путями. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят перорально или парентерально. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят парентерально, например, внутривенно или подкожно (например, путем инъекций или инфузий). В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят подкожно (например, путем инъекций или инфузий). В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят в виде одной или нескольких подкожных инъекций. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят в виде одноразовой (т.е., одной) подкожной инъекции. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят в виде двух или более (например, двух) последовательных подкожных инъекций. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят без внутривенного применения (например, внутривенного введения) перед одной или несколькими подкожными инъекциями. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят через шприц, катетер, насосную систему доставки или стент. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят через шприц (например, предварительно заполненный шприц). В зависимости от пути введения активное соединение/соединения, т.е., антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент, может быть покрыто материалом для защиты соединения/соединений от действия кислот и других природных условий, которые могут инактивировать соединение/соединения.

[0164] Антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию можно формулировать в виде различных форм, таких как порошок, таблетка, капсула, жидкость, инъекция, мазь или экстракт, и/или помещать в однодозовые или многодозовые контейнеры, такие как в виде запечатанной ампулы, флакона или шприца. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию составляют в виде инъекционной формы. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят в состав в виде водного раствора, суспензии или эмульсии с одним или несколькими эксципиентами, разбавителями, дисперсантами,

поверхностно-активными веществами, связывающими средствами и/или смазочными средствами. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическая композиция содержится в шприце (например, в предварительно заполненном шприце). В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическая композиция содержится в шприце, имеющем иглу малого калибра и/или совместимом с иглой малого калибра (например, иглой, больше чем приблизительно 25 калибр, больше чем приблизительно 26 калибро, больше чем приблизительно 27 калибр, больше чем приблизительно 28 калибр, больше чем приблизительно 29 калибр и/или больше чем приблизительно 30 калибр).

[0165] В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию формулируют для достижения стабильности и/или для предотвращения или минимизации физической и/или химической деградации перед введением. Физическая нестабильность может включать такие процессы, как денатурация и агрегация, в то время как общие пути химической деградации в качестве неограничивающих примеров включают сшивание, дезамидирование, изомеризацию, окисление и фрагментацию (см., например, Wang et al., *J. Pharm. Sci.* 91(1):1-26, 2007). Как применяют в настоящем документе, термин «стабильный» или «стабильность» при использовании для описания антитела или его антигенсвязывающего фрагмента означает, что антитело или антигенсвязывающий фрагмент остается интактным таким образом, чтобы сохранять активность (например, связывание с FcRn) и/или достигать терапевтического эффекта. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент, или фармацевтическую композицию формулируют с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями (например, одним или несколькими эксципиентами) таким образом, что они являются стабильными при стандартных условиях хранения. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию формулируют с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями (например, одним или несколькими эксципиентами) таким образом, что они являются стабильными при высоких концентрациях. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент можно стабильно концентрировать в составах приблизительно до 170 мг/мл или выше. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент можно стабильно концентрировать в составах приблизительно выше 170 мг/мл (например, приблизительно 180 мг/мл, приблизительно 200 мг/мл, приблизительно 220 мг/мл или выше). В некоторых вариантах осуществления стабильно концентрированный состав (например, состав, содержащий приблизительно до 170 мг/мл или выше антитела или

антигенсвязывающего фрагмента) сохраняет приемлемую вязкость для введения через иглу малого калибра. В некоторых вариантах осуществления игла малого калибра является больше чем приблизительно 25 калибр, больше чем приблизительно 26 калибр, больше чем приблизительно 27 калибр, больше чем приблизительно 28 калибр, больше чем приблизительно 29 калибр или больше чем приблизительно 30 калибр.

[0166] Режимы дозирования для антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента, отдельно или в сочетании с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, могут быть скорректированы для обеспечения оптимального желаемого ответа (например, терапевтического ответа). Например, однократный болюс антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента может быть введен за один раз, несколько дробных доз могут быть введены в течение predetermined периода времени, или доза антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента может быть пропорционально уменьшена или увеличена в зависимости от того, на что указывает острая необходимость терапевтической ситуации. Для каждого конкретного индивидуума конкретные режимы дозирования могут со временем корректироваться в соответствии с индивидуальными потребностями и профессиональным мнением лечащего врача. Например, в некоторых вариантах осуществления дозу антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента можно надлежащим образом определить, принимая во внимание тяжесть состояния пациента, его возраст, историю болезни и т.п.

[0167] Антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент можно формулировать в фармацевтически приемлемые лекарственные формы общепринятыми способами, известные специалистам в данной области. Парентеральную композицию, например, можно формулировать в стандартной лекарственной форме для простоты введения и единообразия дозировки. Как применяют в настоящем документе, «стандартная лекарственная форма» относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве унитарных доз для подлежащих лечению лиц; каждая единица содержит predetermined количество активного соединения, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта в сочетании с фармацевтическим приемлемым носителем. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию формулируют в стандартной лекарственной форме. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию формулируют в стандартной лекарственной форме для подкожного введения. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию формулируют в стандартной лекарственной форме для

введения в виде одной или нескольких подкожных инъекций (например, одна подкожная инъекция или две или более (например, две) последовательных подкожных инъекции). В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию формулируют в стандартной лекарственной форме (например, в виде одной или нескольких подкожных инъекций) для самостоятельного введения пациентом и/или для введения лечащим врачом.

[0168] Значения дозировок для антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента, композиции, содержащей антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент, и/или любого дополнительного терапевтического средства (средств), можно выбирать на основе уникальных характеристик активного соединения (соединений) и конкретного достигаемого терапевтического эффекта. Врач или ветеринарный врач могут начинать дозирование антитела или антигенсвязывающего фрагмента с более низких уровней, чем те, которые необходимы для достижения желаемого терапевтического эффекта, и постепенно увеличивать дозу до тех пор, пока не будет достигнуто желаемое действие. Врач или ветеринарный врач также могут начинать дозирование антитела или антигенсвязывающего фрагмента с уровней, превышающих те, которые необходимы для достижения желаемого терапевтического эффекта, и постепенно снижать дозировку до тех пор, пока не будет достигнуто желаемое действие. В целом, эффективные дозы антитела или антигенсвязывающего фрагмента для лечения тепловой аутоиммунной гемолитической анемии могут варьировать в зависимости от многих различных факторов, в том числе от того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим. Выбранный уровень дозирования может также зависеть от множества фармакокинетических факторов, включая активность конкретной используемой композиции или ее сложного эфира, соли или амида, путь введения, время введения, скорость выведения конкретного используемого соединения, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или материалы, используемых в комбинации с конкретной используемой композицией, возраст, пол, масса, состояние, общее состояние здоровья и предыдущая история болезни (анамнез) пациента, проходящего лечение, и т.п. факторы. В некоторых вариантах осуществления лечение можно вводить однократно или несколько раз. Можно применять периодические и/или хронические (непрерывные) стратегии дозирования с учетом состояния конкретного пациента.

[0169] В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента используют в способах, применениях и фармацевтических композициях по настоящему раскрытию.

[0170] Как применяют в настоящем документе, термины «терапевтически

эффективное количество» и «терапевтически эффективная доза» используют взаимозаменяемо в настоящем документе для обозначения количества, достаточного для уменьшения по меньшей мере одного симптома или измеримого параметра, связанного с заболеванием, нарушением или состоянием, для нормализации функций организма при заболевании, нарушении или состоянии, которое приводит к нарушению определенных функций организма, и/или для обеспечения улучшения или замедления прогрессирования одного или нескольких клинически измеряемых параметров заболевания, нарушения или состояния. Терапевтически эффективное количество может, например, быть достаточным для лечения, предотвращения, уменьшения тяжести, отсрочки начала и/или снижения риска возникновения одного или нескольких симптомов тепловой аутоиммунной гемолитической анемии. Терапевтически эффективное количество, а также терапевтически эффективную частоту введения можно определять известными в данной области способами и они обсуждаются в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент вводят в количестве, которое является терапевтически эффективным при введении в виде одного средства. В некоторых вариантах осуществления антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент и, по меньшей мере, одно дополнительное терапевтическое средство вводят в количестве, которое является терапевтически эффективным, когда средства используют в комбинации. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента представляет собой количество, необходимое для снижения уровня общего сывороточного IgG и/или уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела (например, по меньшей мере, одного IgG) у пациента с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией или с подозрением на нее. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента представляет собой количество, необходимое для повышения уровня гемоглобина у пациента с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией или с подозрением на нее.

[0171] В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента представляет собой количество, необходимое для снижения уровня общего сывороточного IgG и/или уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, одного IgG) у пациента с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 20%, приблизительно на 25%, приблизительно на 30%, приблизительно на 35%, приблизительно на 40%, приблизительно

на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 55%, приблизительно на 60%, приблизительно на 65%, приблизительно на 70%, приблизительно на 75% или приблизительно на 80% относительно уровня до лечения антителом к FcRn или антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента представляет собой количество, необходимое для снижения уровня общего сывороточного IgG и/или уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, одного IgG) у пациента с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 40%, приблизительно на 50%, приблизительно на 60%, приблизительно на 70% или приблизительно на 80% относительно уровня до лечения антителом к FcRn или антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента представляет собой количество, необходимое для снижения концентрации эндогенного сывороточного IgG у пациента с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией и/или в образце от пациента до менее чем приблизительно 40%, приблизительно 50%, приблизительно 60 %, приблизительно 70% или приблизительно 80% от значений до лечения.

[0172] Фраза «уровень общего IgG» или «уровень общего сывороточного IgG», как применяют в настоящем документе, относится к концентрации эндогенного сывороточного IgG, например, у пациента или в биологическом образце (например, анализе крови) от пациента.

[0173] Фраза «уровень, по меньшей мере, одного аутоантитела», как применяют в настоящем документе, относится к концентрации в сыворотке, по меньшей мере, одного эндогенного аутоантитела, например, у пациента или в биологическом образце от пациента.

[0174] Фраза «уровень, по меньшей мере, одного IgG», как применяют в настоящем документе, относится к концентрации в сыворотке, по меньшей мере, одного эндогенного IgG, например, у пациента или в образце от пациента. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит патогенный IgG. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит сывороточный IgG1. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит сывороточный IgG2. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит сывороточный IgG3. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, один IgG содержит сывороточный IgG4.

[0175] В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное

количество антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента представляет собой количество, необходимое для повышения уровня гемоглобина у пациента с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 15% или приблизительно на 20% (например, приблизительно от 5% до приблизительно 30%) относительно уровня, предшествующего лечению антителом к FcRn или антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента представляет собой количество, необходимое для повышения уровня гемоглобина у пациента с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 10% (например, приблизительно от 10% до приблизительно 15%) приблизительно через одну или две недели еженедельного дозирования относительно уровня, предшествующего лечению антителом к FcRn или антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или антигенсвязывающего фрагмента представляет собой количество, необходимое для повышения уровня гемоглобина у пациента с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 20% (например, приблизительно от 20% до приблизительно 25%) приблизительно через одну или две недели еженедельного дозирования относительно уровня, предшествующего лечению антителом к FcRn или антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% и более) сохраняется в течение всего периода лечения или его части. В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% и более) сохраняется в течение, по меньшей мере, двух, трех или четырех недель (например, 4 недели или дольше). В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% и более) сохраняется приблизительно от двух до приблизительно шести недель.

[0176] Термин «приблизительно» или «примерно», как применяют в настоящем документе в отношении числовых значений и диапазонов, относится к значениям или диапазонам, которые приблизительно равны или близки к указанным значениям или диапазонам, таким образом, что вариант осуществления может выполняться по назначению, как как следует из идей, содержащихся в настоящем документе. Эти термины охватывают

значения, выходящие за рамки тех, которые являются результатом систематической ошибки. В некоторых вариантах осуществления «приблизительно» или «примерно» означает плюс-минус 10% от числового количества.

[0177] В различных вариантах осуществления терапевтических способов и применений, описываемых в настоящем документе, антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в виде фиксированной дозы. В различных вариантах осуществления терапевтических способов и применений, описываемых в настоящем документе, антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в виде дозы, основанной на массе, т.е., доза зависит от массы тела пациента. В различных вариантах осуществления терапевтических способов и применений, описываемых в настоящем документе, антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в виде дозы, основанной на площади поверхности тела, т. е. дозы, зависящей от площади поверхности тела пациента (BSA). В различных вариантах осуществления вводимая пациенту доза содержит терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

[0178] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно от 170 мг до приблизительно 1500 мг. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно от 300 мг до приблизительно 800 мг. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 170 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 650 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 750 мг, приблизительно 800 мг, приблизительно 850 мг, приблизительно 900 мг, приблизительно 950 мг, приблизительно 1000 мг, приблизительно 1050 мг, приблизительно 1100 мг, приблизительно 1150 мг, приблизительно 1200 мг, приблизительно 1250 мг, приблизительно 1300 мг, приблизительно 1350 мг, приблизительно 1400 мг, приблизительно 1450 мг или приблизительно 1500 мг, например, один раз в неделю или один раз в две недели.

[0179] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно от 170 мг до приблизительно 300 мг. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 170 мг, приблизительно 180 мг, приблизительно 190 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 210 мг, приблизительно 220 мг, приблизительно 230 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 260 мг, приблизительно

антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 340 мг один раз в неделю в течение, по меньшей мере, двенадцати недель.

[0182] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно от 500 мг до приблизительно 700 мг. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 500 мг, приблизительно 510 мг, приблизительно 520 мг, приблизительно 530 мг, приблизительно 540 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 560 мг, приблизительно 570 мг, приблизительно 580 мг, приблизительно 590 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 610 мг, приблизительно 620 мг, приблизительно 630 мг, приблизительно 640 мг, приблизительно 650 мг, приблизительно 660 мг, приблизительно 670 мг, приблизительно 680 мг, приблизительно 690 мг или приблизительно 700 мг.

[0183] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно от 650 мг до приблизительно 750 мг. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 650 мг, приблизительно 660 мг, приблизительно 670 мг, приблизительно 680 мг, приблизительно 690 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 710 мг, приблизительно 720 мг, приблизительно 730 мг, приблизительно 740 мг или приблизительно 750 мг. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 660 мг, приблизительно 670 мг, приблизительно 680 мг, приблизительно 690 мг или приблизительно 700 мг. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 680 мг. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 680 мг один раз в неделю или один раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 680 мг один раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 680 мг один раз в неделю в течение, по меньшей мере, двух недель (например, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 10 недель, 12 недель или дольше). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 680 мг один раз в неделю в течение, по меньшей мере, четырех недель. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 680

приблизительно 1330 мг, приблизительно 1340 мг, приблизительно 1350 мг, приблизительно 1360 мг, приблизительно 1370 мг, приблизительно 1380 мг, приблизительно 1390 мг, приблизительно 1400 мг, приблизительно 1410 мг, приблизительно 1420 мг, приблизительно 1430 мг, приблизительно 1440 мг, приблизительно 1450 мг, приблизительно 1460 мг, приблизительно 1470 мг, приблизительно 1480 мг, приблизительно 1490 мг или приблизительно 1500 мг.

[0188] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно от 1 мг/кг до приблизительно 2000 мг/кг массы тела. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно от 1 мг/кг до приблизительно 200 мг/кг, приблизительно от 200 мг/кг до приблизительно 400 мг/кг, приблизительно от 400 мг/кг до приблизительно 600 мг/кг, приблизительно от 600 мг/кг до приблизительно 800 мг/кг, приблизительно от 800 мг/кг до приблизительно 1000 мг/кг, приблизительно от 1000 мг/кг до приблизительно 1200 мг/кг, приблизительно от 1200 мг/кг до приблизительно 1400 мг/кг, приблизительно от 1400 мг/кг до приблизительно 1600 мг/кг, приблизительно от 1600 мг/кг до приблизительно 1800 мг/кг или приблизительно от 1800 мг/кг до приблизительно 2000 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно от 1 мг/кг до приблизительно 200 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 30 мг/кг, приблизительно 40 мг/кг, приблизительно 50 мг/кг, приблизительно 60 мг/кг, приблизительно 70 мг/кг, приблизительно 80 мг/кг, приблизительно 90 мг/кг, приблизительно 100 мг/кг, приблизительно 110 мг/кг, приблизительно 120 мг/кг, приблизительно 130 мг/кг, приблизительно 140 мг/кг, приблизительно 150 мг/кг, приблизительно 160 мг/кг, приблизительно 170 мг/кг, приблизительно 180 мг/кг, приблизительно 190 мг/кг или приблизительно 200 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно от 1 мг/кг до приблизительно 40 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в дозе приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 25 мг/кг, приблизительно 30 мг/кг, приблизительно 35 мг/кг или приблизительно 40 мг/кг.

[0189] Частота, с которой антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят пациенту в качестве единственного средства или в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, может составлять один раз или более

одного раза. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводят несколько раз. Интервалы между дозами могут быть, например, ежедневными, еженедельными, раз в две недели, ежемесячными или ежегодными. Интервалы также могут быть нерегулярными, например, на основе измерения уровня антитела или антигенсвязывающего фрагмента в крови пациента, чтобы поддерживать относительно постоянную концентрацию антитела или антигенсвязывающего фрагмента в плазме; на основе измерения уровней, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, одного IgG) с целью поддержания сниженного уровня, по меньшей мере, одного аутоантитела и/или патогенного антитела (например, по меньшей мере, одного IgG), так чтобы обеспечить желаемый терапевтический или профилактический эффект; на основании измерения уровня общего сывороточного IgG с целью поддержания сниженного уровня общего сывороточного IgG для обеспечения желаемого терапевтического или профилактического эффекта; и/или на основе измерения уровня гемоглобина для поддержания повышенного уровня гемоглобина, чтобы обеспечить желаемый терапевтический или профилактический эффект. В качестве альтернативы, в некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент можно вводить в виде состава с длительным высвобождением, и в этом случае требуется менее частое введение. Дозировка и частота могут варьироваться в зависимости от времени полужизни антитела или антигенсвязывающего фрагмента у пациента. Дозировка и частота введения также могут варьироваться в зависимости от того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим. При профилактическом применении относительно низкие дозы можно вводить через относительно нечастые промежутки времени в течение длительного периода времени. Некоторые пациенты могут продолжать получать лечение до конца жизни. В терапевтических целях иногда вводят относительно более высокие дозы с относительно более короткими интервалами до тех пор, пока прогрессирование заболевания не уменьшится или не прекратится, и обязательно до тех пор, пока у пациента не проявится частичное или полное улучшение состояния одного или нескольких симптомов заболевания. После этого пациенту можно ввести более низкий, например, профилактический режим.

[0190] В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз или более одного раза в течение периода приблизительно одни сутки, двое суток, трое суток, четверо суток, 5 суток, 6 суток, 7 суток, 8 суток, 9 суток, 10 суток, 11 суток, 12 суток, 13 суток, 14 суток, одна

неделя, две недели, 3 недели, 4 недели, 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев, 24 месяца, 30 месяцев, 36 месяцев или дольше.

[0191] В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в виде однократной дозы.

[0192] В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение, по меньшей мере, одной недели, по меньшей мере, двух недель, по меньшей мере, трех недель, по меньшей мере, четырех недель, по меньшей мере, пяти недель, по меньшей мере, шести недель, по меньшей мере, семи недель, по меньшей мере, восьми недель, по меньшей мере, девяти недель, по меньшей мере, десяти недель, по меньшей мере, двенадцати недель, по меньшей мере, двадцати недель, по меньшей мере, двадцати четырех недель, по меньшей мере, тридцати недель, по меньшей мере, сорока недель, по меньшей мере, пятидесяти недель, по меньшей мере, шестидесяти недель, по меньшей мере, семидесяти недель, по меньшей мере, семидесяти шести недель, по меньшей мере, восьмидесяти недель или дольше. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю от шести до семидесяти шести недель или в течение любого периода в этом диапазоне. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение, по меньшей мере, двух недель, по меньшей мере, трех недель, по меньшей мере, четырех недель или, по меньшей мере, шести недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение, по меньшей мере, четырех недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение, по меньшей мере, семи недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в течение, по меньшей мере, двенадцати недель. В некоторых вариантах применения антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю до тех пор, пока не будет достаточно для лечения, профилактики, уменьшения тяжести, отсрочки начала и/или снижения риска возникновения одного или нескольких

симптомов тепловой аутоиммунной гемолитической анемии (например, бледности, усталости, желтухи, увеличения селезенки).

[0193] В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в виде одной (т.е., однократной) подкожной инъекции. В некоторых вариантах применения антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в неделю в виде двух или более последовательных подкожных инъекций (например, двух последовательных подкожных инъекций). Термин «последовательный», как применяют в настоящем документе в отношении подкожных инъекций (или других способов введения), относится к двум или более подкожным инъекциям, вводимым одна за другой, но достаточно близко по времени, чтобы обеспечить желаемый терапевтический или профилактический эффект. В некоторых вариантах осуществления последовательные подкожные инъекции вводят в течение примерно тридцати секунд, примерно в течение одной минуты, примерно в течение двух минут, примерно в течение пяти минут, примерно в течение десяти минут, примерно в течение тридцати минут, примерно в течение одного часа, примерно в течение двух часов или в течение примерно пяти часов одну за другой.

[0194] В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в две недели (раз в две недели). В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в две недели в течение, по меньшей мере, двух недель, по меньшей мере, четырех недель, по меньшей мере, шести недель, по меньшей мере, восьми недель, по меньшей мере, десяти недель, по меньшей мере, двенадцати недель, по меньшей мере, двадцати недель, по меньшей мере, двадцати четырех недель, по меньшей мере, тридцати недель, по меньшей мере, сорока недель, по меньшей мере, пятидесяти недель, по меньшей мере, шестидесяти недель, по меньшей мере, семидесяти недель, по меньшей мере, семидесяти шести недель, по меньшей мере, восьмидесяти недель или дольше. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в две недели от шести до семидесяти шести недель или в течение любого периода в этом диапазоне. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в две недели в течение, по меньшей мере, двенадцати недель. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в две недели до тех пор, пока не будет достаточно для лечения, профилактики, уменьшения тяжести, отсрочки начала и/или снижения риска возникновения

одного или нескольких симптомов тепловой аутоиммунной гемолитической анемии. В некоторых вариантах осуществления антитело антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в две недели в виде однократной подкожной инъекции. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в две недели в виде двух или более последовательных подкожных инъекций.

[0195] В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в месяц. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в месяц в течение, по меньшей мере, одного месяца, по меньшей мере, двух месяцев, по меньшей мере, трех месяцев, по меньшей мере, четырех месяцев, по меньшей мере, пяти месяцев, по меньшей мере, шести месяцев, по меньшей мере, семи месяцев, по меньшей мере, восьми месяцев, по меньшей мере, девяти месяцев, по меньшей мере, десяти месяцев, по меньшей мере, одиннадцати месяцев, по меньшей мере, двенадцати месяцев, по меньшей мере, восемнадцати месяцев, по меньшей мере, двадцати четырех месяцев, по меньшей мере, тридцати месяцев, по меньшей мере, тридцати шести месяцев или дольше. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в месяц до тех пор, пока не будет достаточно для лечения, профилактики, уменьшения тяжести, отсрочки начала и/или снижения риска возникновения одного или нескольких симптомов тепловой аутоиммунной гемолитической анемии. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в месяц в виде однократной подкожной инъекции. В некоторых вариантах осуществления антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят пациенту один раз в месяц в виде двух или более последовательных подкожных инъекций.

[0196] В некоторых вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 170 мг до приблизительно 1500 мг, вводимых один раз в виде однократной дозы. Более конкретно, в некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 170 мг до приблизительно 300 мг, вводимых один раз в виде однократной дозы. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 300 мг до

лечение снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 20%, приблизительно на 25%, приблизительно на 30%, приблизительно на 35%, приблизительно на 40%, приблизительно на 45%, или приблизительно на 50%. В некоторых вариантах осуществления лечение снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 25%. В некоторых вариантах осуществления лечение снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 35%. В некоторых вариантах осуществления лечение снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 45%. В некоторых вариантах осуществления максимальное происходит в период приблизительно от 5 суток до приблизительно 20 суток после введения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, или фармацевтической композиции, содержащей антитело или антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления максимальное снижение уровня общего сывороточного IgG у пациента происходит в период приблизительно от 8 суток до приблизительно 15 суток после введения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, или фармацевтической композиции, содержащей антитело или антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления максимальное снижение уровня общего сывороточного IgG происходит после приблизительно от трех до пяти доз (например, после приблизительно четырех доз) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, или фармацевтической композиции, содержащей антитело или антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления лечение повышает уровень гемоглобина у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 15% или приблизительно на 20% (например, приблизительно от 5% до приблизительно 30%). В некоторых вариантах осуществления лечение повышает уровень гемоглобина у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 10% (например, приблизительно от 10% до приблизительно 15%). В некоторых вариантах осуществления лечение повышает уровень гемоглобина у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 20% (например, приблизительно от 20% до приблизительно 25%). В некоторых вариантах осуществления лечение повышает уровень гемоглобина у пациента более чем приблизительно на 20% (например, приблизительно на 25%, приблизительно на 30% или больше).

[0198] В некоторых вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 170 мг до приблизительно 1500 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или

антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 170 мг до приблизительно 300 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 300 мг до приблизительно 500 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 500 мг до приблизительно 700 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 700 мг до приблизительно 900 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 900 мг до приблизительно 1100 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 1100 мг до приблизительно 1300 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 1300 мг до приблизительно 1500 мг, вводимых раз в неделю.

[0199] В некоторых вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 300 мг до приблизительно 800 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 300 мг до приблизительно 400 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 650 мг до приблизительно 750 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 680 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления лечение снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 50%, приблизительно на 55%, приблизительно на 60%, приблизительно на 65%, приблизительно на 70%, приблизительно на 75% или приблизительно на 80%. В некоторых вариантах осуществления лечение снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента, по

меньшей мере, приблизительно на 60%. В некоторых вариантах осуществления лечение снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 70%. В некоторых вариантах осуществления лечение снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 80%. В некоторых вариантах осуществления максимальное снижение уровня общего сывороточного IgG у пациента происходит в период приблизительно от 20 суток до приблизительно 30 суток после введения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, или фармацевтической композиции, содержащей антитело или антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления максимальное снижение уровня общего сывороточного IgG у пациента происходит приблизительно на двадцать четвертые сутки после введения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, или фармацевтической композиции, содержащей антитело или антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления максимальное снижение уровня общего сывороточного IgG происходит после приблизительно от трех до пяти доз (например, после приблизительно четырех доз) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, или фармацевтической композиции, содержащей антитело или антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления лечение повышает уровень гемоглобина у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 15% или приблизительно на 20% (например, приблизительно от 5% до приблизительно 30%). В некоторых вариантах осуществления лечение повышает уровень гемоглобина у пациента более чем приблизительно на 20%. В некоторых вариантах осуществления лечение повышает уровень гемоглобина у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 10% (например, приблизительно от 10% до приблизительно 15%) после приблизительно одной или двух недель еженедельного дозирования (например, 680 мг, вводимых раз в неделю). В некоторых вариантах осуществления лечение повышает уровень гемоглобина у пациента, по меньшей мере, приблизительно на 20% (например, приблизительно от 20% до приблизительно 25%) после приблизительно одной или двух недель еженедельного дозирования (например, 680 мг, вводимых раз в неделю). В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% или больше) сохраняется во время всего периода лечения или его части. В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% или больше) сохраняется в течение, по меньшей мере, четырех недель (например, по меньшей мере, 4 недели, 6 недель, 8 недель, 10 недель, 12 недель или дольше).

[0200] В некоторых вариантах осуществления терапевтических способов,

антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 300 мг до приблизительно 500 мг, вводимых один раз в месяц. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 500 мг до приблизительно 700 мг, вводимых один раз в месяц. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 700 мг до приблизительно 900 мг, вводимых один раз в месяц. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 900 мг до приблизительно 1100 мг, вводимых один раз в месяц. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 1100 мг до приблизительно 1300 мг, вводимых один раз в месяц. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 1300 мг до приблизительно 1500 мг, вводимых один раз в месяц.

[0202] В некоторых вариантах осуществления терапевтических способов, применений и композиций, описываемых в настоящем документе, терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг (например, приблизительно 680 мг), вводимых раз в неделю.

[0203] В некоторых вариантах осуществления лечение антителом или антигенсвязывающим фрагментом в дозе приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг (например, приблизительно 680 мг), вводимой раз в неделю, снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 40% (например, приблизительно от 40% до приблизительно 50%) после приблизительно одной или двух недель еженедельного дозирования относительно уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце до начала лечения. В некоторых вариантах осуществления лечение антителом или антигенсвязывающим фрагментом в дозе приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг (например, приблизительно 680 мг), вводимой раз в неделю, снижает уровень общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 60% (например, приблизительно от 60% до приблизительно 70%) после приблизительно трех недель еженедельного дозирования относительно уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце до начала лечения. В некоторых вариантах осуществления лечение антителом или антигенсвязывающим фрагментом в дозе приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг (например, приблизительно 680 мг), вводимой раз в неделю, снижает уровень общего

сывороточного IgG у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 70% (например, приблизительно от 70% до приблизительно 80%) после приблизительно пяти недель еженедельного дозирования относительно уровня общего сывороточного IgG у пациента и/или в образце до начала лечения. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 680 мг, вводимых раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 680 мг, вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, двух недель (например, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 10 недель, 12 недель или дольше, например, 4 недели, 7 недель, 12 недель или дольше).

[0204] В некоторых вариантах осуществления лечение антителом или антигенсвязывающим фрагментом в дозе приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг (например, приблизительно 680 мг), вводимой раз в неделю, повышает уровень гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 10% (например, приблизительно от 10% до приблизительно 15%) после приблизительно одной или двух недель еженедельного дозирования относительно уровня гемоглобина у пациента и/или в образце до начала лечения. В некоторых вариантах осуществления лечение антителом или антигенсвязывающим фрагментом в дозе приблизительно 340 мг или приблизительно 680 мг (например, приблизительно 680 мг), вводимой раз в неделю, повышает уровень гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента, по меньшей мере, приблизительно на 20% (например, приблизительно от 20% до приблизительно 25%) после приблизительно одной или двух недель еженедельного дозирования относительно уровня гемоглобина у пациента и/или в образце до начала лечения. В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% и более) сохраняется в течение всего периода лечения или его части. В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента и/или в образце от пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% и более) сохраняется в течение, по меньшей мере, двух, трех или четырех недель (например, 4 недели или дольше). В некоторых вариантах осуществления повышение уровня гемоглобина у пациента и/или в образце у пациента (например, повышение приблизительно на 10%, приблизительно на 20% и более) сохраняется приблизительно от двух до приблизительно шести недель. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно 680

мг, вводимых раз в неделю в течение, по меньшей мере, двух недель (например, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 10 недель, 12 недель или дольше, например, 4 недели, 7 недель, 12 недель или дольше).

[0205] В различных вариантах настоящего осуществления настоящее раскрытие также относится к набору для применения в терапевтических целях, описываемых в настоящем документе. В различных вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к набору, содержащему антитело к FcRn или его антигенсвязывающий фрагмент для применения для лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии. В различных вариантах осуществления набор содержит один или несколько дополнительных компонентов, включающих в себя в качестве неограничивающих примеров инструкции по использованию; другие средства, например, одно или несколько дополнительных терапевтических средств (например, одно или несколько средств стандартной терапии); устройства, контейнеры или другие материалы для приготовления антитела или антигенсвязывающего фрагмента для терапевтического введения; фармацевтически приемлемые носители (например, эксципиенты); и устройства, контейнеры или другие материалы для введения антитела или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Инструкции по применению могут включать рекомендации по терапевтическому применению, включая рекомендуемые дозы и/или указания, например, у пациентов с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией или с подозрением на нее. В различных вариантах осуществления набор содержит антитело к FcRn или его антигенсвязывающий фрагмент и инструкции для терапевтического применения, например, использования антитела или антигенсвязывающего фрагмента для лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у пациентов. В различных вариантах осуществления набор дополнительно содержит, по меньшей мере, одно дополнительное терапевтическое средство (например, для введения в комбинации с антителом или антигенсвязывающим фрагментом). В различных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент формулируют в виде фармацевтической композиции.

[0206] В некоторых вариантах осуществления антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент получают путем экспрессии и очисткой с использованием способа генетической рекомбинации. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотидные последовательности, которые кодируют переменную область антитела или антигенсвязывающего фрагмента, получают путем экспрессии в отдельных клетках-хозяевах или одновременно в одной клетке-хозяине.

[0207] Как применяют в настоящем документе, термин «рекомбинантный вектор» относится к экспрессирующему вектору, способному экспрессировать интересующий белок

в подходящей клетке-хозяине. Термин включает в себя конструкцию ДНК, включая необходимые регуляторные элементы, функционально связанные с экспрессией вставки нуклеиновой кислоты.

[0208] Как применяют в настоящем документе, термин «функционально связанный» относится к последовательности, контролирующей экспрессию нуклеиновой кислоты и функционально связанной с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей представляющий интерес белок, таким образом, чтобы выполнять общие функции. Функциональное связывание с рекомбинантным вектором можно проводить с помощью хорошо известного в данной области способа генетической, а сайт-специфическое расщепление и лигирование ДНК можно легко выполнить с использованием ферментов, как правило, известных в данной области.

[0209] Подходящий экспрессирующий вектор может содержать элементы, регулирующие экспрессию, такие как промотор, оператор, кодон инициации, стоп-кодон, сигнал полиаденилирования и энхансер, а также сигнальные последовательности для нацеливания на мембрану или секреции. Кодоны инициации и стоп-кодоны обычно считаются частью нуклеотидной последовательности, кодирующей иммуногенный белок-мишень, и должны быть функциональными у индивидуума, которому была введена генетическая конструкция, и должны находиться в рамке с кодирующей последовательностью. Промоторы обычно могут быть конститутивными или индуцибельными. Прокариотические промоторы в качестве неограничивающих примеров включают промоторы lac, tac, T3 и T7. Эукариотические промоторы в качестве неограничивающих примеров включают промотор обезьяньего вируса 40 (SV40), промотор мышинной опухоли молочной железы, промотор вируса молочной железы (MMTV), промотор вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), такие как промотор ВИЧ с длинными концевыми повторами (LTR), промотор вируса Молони, цитомегаловирусный (CMV) промотор, промотор вируса Эпштейна-Барр (EBV), промотор вируса саркомы Роуса (RSV), а также промоторы из генов человека, таких как β -актин человека, гемоглобин человека, мышечный креатин человека и металлотioneин человека. Экспрессирующий вектор может содержать селективируемый маркер, что позволяет проводить отбор клеток-хозяев, содержащих вектор. Гены, кодирующие продукты, которые придают селективируемые фенотипы, такие как устойчивость к лекарственным средствам, потребность в питательных веществах или устойчивость к цитотоксическим средствам или экспрессия белков на поверхности, можно использовать в качестве общих селективируемых маркеров. Поскольку только клетки, экспрессирующие селективируемый маркер, выживают в среде, обработанной селективным агентом, можно отбирать трансформированные клетки. Кроме того,

реплицируемый экспрессирующий вектор может включать точку начала репликации, специфическую последовательность нуклеиновой кислоты, которая инициирует репликацию. Рекомбинантные экспрессирующие векторы, которые можно использовать, включают различные векторы, такие как плазмиды, вирусы и космиды. Тип рекомбинантного вектора не ограничен, и рекомбинантный вектор может функционировать для экспрессии желаемого гена и производства желаемого белка в различных клетках-хозяевах, а также в прокариотических и эукариотических клетках. В некоторых вариантах осуществления используют вектор, который может продуцировать большое количество чужеродного белка, сходного с природным белком, при этом обладая сильной способностью к экспрессии с промотором, проявляющим высокую активность.

[0210] Для экспрессии антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента можно использовать множество комбинаций экспрессирующий хозяин/вектор. Например, экспрессирующие векторы, подходящие для эукариотического хозяина в качестве неограничивающих примеров включают SV40, вирус бычьей папилломы, аденовирус, аденоассоциированный вирус, цитомегаловирус и ретровирус. Экспрессирующие векторы, которые можно использовать для бактериальных хозяев, включают бактериальные плазмиды, такие как pET, pRSET, pBluescript, pGEX2T, pUC, col E1, pCR1, pBR322, pMB9 и их производные, плазмиды, такие как RP4, имеющие более широкий круг хозяев, фаговая ДНК, представленная в виде различных производных фага лямбда, таких как gt10, gt11 и NM989, и другие ДНК-фаги, такие как M13 и нитевидный одноцепочечный ДНК-фаг. Экспрессирующие векторы, подходящие для дрожжевых клеток включают 2 мкм плазмиду и ее производные. Вектором, подходящим для клеток насекомых, является pVL941.

[0211] В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вектор вводят в клетку-хозяина для образования трансформанта. Клетки-хозяева, подходящие для использования, включают прокариотические клетки, такие как *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Proteus mirabilis* и *Staphylococcus sp.*, грибы, такие как *Aspergillus sp.*, дрожжи, такие как *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces sp.* и *Neurospora crassa*, и эукариотические клетки, такие как клетки низших эукариот, и клетки других высших эукариот, такие как клетки насекомых.

[0212] В некоторых вариантах осуществления клетки-хозяева получены из растений или животных (например, млекопитающие), и их примеры в качестве неограничивающих примеров включают клетки почки обезьяны (COS7), клетки NSO, SP2/0, клетки яичника китайского хомяка (CHO), W138, клетки почки новорожденного хомяка (ВНК), MDCK, миеломные клетки, клетки HuT 78 и клетки HEK293. В некоторых вариантах осуществления используют клетки CHO.

[0213] Трансфекция или трансформация клетки-хозяина может включать любой способ, с помощью которого нуклеиновые кислоты могут быть введены в организмы, клетки, ткани или органы, и, как известно в данной области, их можно проводить, используя подходящий стандартный способ, выбранный в соответствии с типом клетки-хозяина. Способы в качестве неограничивающих примеров включают электропорацию, слияние протопластов, осаждение фосфатом кальция (CaPO_4), осаждение хлоридом кальция (CaCl_2), перемешивание с волокном карбида кремния, а также трансформацию, опосредованную агробактериями, ПЭГ, декстрансульфатом, липофектамином и высушиванием/ингибированием.

[0214] Антитело к FcRn или антигенсвязывающий фрагмент можно получать в большом количестве при культивировании трансформанта, содержащего рекомбинантный вектор в питательной среде, и применяемые среду и условия культивирования можно выбирать в зависимости от типа клетки-хозяина. Во время культивирования можно контролировать условия, включая температуру, pH среды и время культивирования, чтобы они были подходящими для роста клеток и массового производства белка. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент, полученный способом рекомбинации, как описано в настоящем документе, можно собирать из среды или лизата клеток и выделять и очищать с помощью общепринятых биохимических способов выделения (Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); Deucher, *Guide to Protein Purification Methods Enzymology*, Vol. 182. Academic Press. Inc., San Diego, CA (1990)). Эти способы в качестве неограничивающих примеров включают электрофорез, центрифугирование, гель-фильтрацию, осаждение, диализ, хроматографию (например, ионообменную хроматографию, аффинную хроматографию, иммуносорбентную хроматографию, эксклюзионную хроматографию и т.д.), изоэлектрическое точечное фокусирование и различные модификации и их сочетания. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент выделяют и очищают с использованием белка А.

Примеры

[0215] Далее в настоящем документе настоящее раскрытие будет описано более подробно со ссылкой на примеры. Специалистам в данной области будет очевидно, что эти примеры предназначены только для иллюстративных целей и не должны толковаться как ограничивающие объем настоящего раскрытия.

Пример 1: Конструирование анти-FcRn-экспрессирующей библиотеки с использованием трансгенных крыс

[0216] Иммунизацию проводили с использованием шести трансгенных крыс

(OmniRat®, ОМТ). В качестве иммуногена использовали человеческий FcRn. Обе подушечки лап крыс иммунизировали восемь раз 0,0075 мг FcRn человека (каждый раз) вместе с адьювантом с интервалом в три дня в течение 24 дней. На день 28 крыс иммунизировали 5-10 мкг иммуногена, разведенного в буфере PBS. На день 28 собирали сыворотку крыс и использовали для измерения титра антител. На день 31 крыс подвергали эвтаназии, а подколенный лимфоузел и паховый лимфоузел извлекали для слияния с клетками миеломы P3X63/AG8.653.

[0217] Проводили анализ ИФА для измерения титра антител в сыворотках крыс. В частности, человеческий FcRn разбавляли буфером PBS (pH 6,0 или pH 7,4) до получения раствора 2 мкг/мл, и покрывали каждую лунку 96-луночного планшета 100 мкл раствора, а затем инкубировали при 4°C в течение, по меньшей мере, 18 часов. Каждую лунку отмывали три раза при помощи 300 мкл промывочного буфера (0,05% Tween 20 в PBS) для удаления несвязавшегося человеческого FcRn, добавляли 200 мкл блокирующего буфера в каждую лунку и инкубировали при температуре окружающей среды в течение двух часов. Раствор исследуемой сыворотки разбавляли в концентрации 1/100, а затем раствор последовательно разбавляли в 2 раза, чтобы в сумме получилось десять тестируемых образцов с коэффициентом разбавления от 1/100 до 1/256000). После блокирования каждую лунку промывали 300 мкл промывочного буфера, а затем каждый тестируемый образец добавляли в каждую лунку и инкубировали при комнатной температуре в течение двух часов. После трехкратного промывания в каждую лунку добавляли по 100 мкл раствора вторичного детектирующего антитела 1:50000 в буфере PBS и инкубировали при комнатной температуре в течение двух часов. После повторного трехкратного промывания в каждую лунку добавляли по 100 мкл раствора ТМВ и оставляли для реакции при температуре в течение 10 минут, а затем добавляли по 50 мкл 1М останавливающего раствора с серной кислотой в каждую лунку для остановки реакции, после чего измеряли значение OD при 450 нм с помощью микропланшетного спектрофотометра. Титр IgG к человеческому FcRn (hFcRn) в результате иммунизации был выше, чем у преимунизированной сыворотке крыс.

[0218] В общей сложности были получены три гибридные библиотеки А, В и С, слитые с использованием полиэтиленгликоля. В частности, трансгенные крысы 1 и 5 использовались для создания гибридной библиотеки А, крысы 2 и 6 использовались для создания гибридной библиотеки В, и крысы 3 и 4 использовались для создания гибридной библиотеки С. Смесь для слияния гибридных библиотек для конструирования каждой гибридной библиотеки культивировали в среде, содержащую НАТ, в течение семи дней таким образом, что отбирали только клетки, слитые с НАТ. Гибридные клетки, жизнеспособные в среде НАТ, собирали и культивировали в среде НТ

в течение приблизительно шести суток, а затем супернатант собирали, а количество крысиного IgG в супернатанте измеряли с использованием набора ИФА для крысиного IgG (RD-biotech). В частности, каждый образец разбавляли в пропорции 1:100, и 100 мкл разведения добавляли в каждую лунку планшета для ИФА и смешивали с пероксидазаконъюгированными антителами к крысиному IgG с последующей реакцией при комнатной температуре в течение 15 минут. Добавляли 100 мкл раствора ТМВ в каждую лунку и давали прореагировать при комнатной температуре в течение 10 минут, а затем добавляли в каждую лунку 50 мкл 1М останавливающего раствора с серной кислотой для остановки реакции. Далее измеряли значение OD при 450 нм с помощью микропланшетного спектрофотометра.

Пример 2: Оценка аффинности связывания антигена и способности блокировать связывание IgG для антител к hFcRn из гибридных библиотек

[0219] Для анализа связывания антител с hFcRn проводили такой же анализ ИФА (pH 6,0 и pH 7,4), как указано выше.

[0220] С использованием культуральных супернатантов трех гибридных библиотек проводили оценку аффинности связывания hFcRn путем FACS при 5 нг/мл и 25 нг/мл и pH 6,0 и pH 7,4. Клетки НЕК293, стабильно экспрессирующие FcRn человека, отделяли от колбы, а затем суспендировали в реакционном буфере (0,05% БСА в PBS, pH 6,0 или pH 7,4). Суспензию разбавляли до плотности клеток 2×10^6 клеток/мл и 50 мкл разведения добавляли в каждую лунку 96-луночного планшета. Затем в каждую лунку добавляли 50 мкл культурального супернатанта гибридной библиотеки, разбавленного до 10 нг/мл и 50 нг/мл, и суспендировали для связывания антител. Козлиное антитело A488 к кроличьему IgG разбавляли в соотношении 1:200 в реакционном буфере, и 100 мкл разведения добавляли в каждую лунку и смешивали с клеточным осадком для проведения реакции связывания, а затем 150 мкл реакционного буфера добавляли в каждую лунку. Измерение проводили в FACS (BD).

[0221] Оценку способности гибридных библиотек к блокированию FcRn человека способом FACS проводили при pH 6,0. В частности, наивные клетки НЕК293 и клетки НЕК293, стабильно экспрессирующие FcRn человека, суспендировали в реакционном буфере (0,05% БСА в PBS, pH 6,0). Добавляли 1×10^5 клеток в 96-луночный планшет, и обрабатывали по 4 нМ культурального супернатанта каждой гибридной библиотеки и 0,4 нМ 10-кратного разведения супернатанта. Для подтверждения блокирующей способности hIgG в каждую лунку добавляли 100 нМ A488-hIgG1, затем инкубировали на льду в течение 90 минут. После завершения реакции осадки клеток промывали 100 мкл реакционного буфера и переносили в U-образную круглодонную пробирку с последующим измерением в FACS. Измеряли количество 100 нМ A488-hIgG1, оставшегося в клетках, стабильно

экспрессирующих FcRn человека, и рассчитывали блокирование (%). В качестве контроля изотипа использовали hIgG1, а в качестве положительного контроля использовали ранее разработанное антитело HL161-1Ag для сравнительной оценки блокирующего эффекта антител. Каждый контроль анализировали по концентрациям 1 мкМ и 2 мкМ, а образец гибридной библиотеки измеряли при двух концентрациях 0,4 нМ и 4 нМ.

Пример 3: Выделение гибридного клона путем FACS и отбор антител человека

[0222] Используя гибридную библиотеку А, демонстрирующую наивысшую аффинность связывания FcRn человека и блокирующий эффект, клоны выделили с помощью FACS (проточной цитометрии), чтобы таким образом получить в общей сложности 442 одиночных клон. Выделенные моноклоны культивировали в среде НТ и собирали супернатант. Антитело-экспрессирующие клоны гибридомы, связывающиеся с hFcRn, в супернатанте выбирали с помощью FACS.

[0223] РНК выделяли из 100 моноклонов, отобранных с помощью анализа FACS, и секвенировали выделенную РНК. На первой стадии секвенирования 88 из 100 моноклонов были секвенированы и разделены в соответствии с аминокислотной последовательностью на 35 групп (от G1 до G38). Культуральные супернатанты репрезентативных клонов из 33 групп, за исключением двух клонов (G33 и G35), среды которых были недоступны, разбавляли до концентрации 100 нг/мл и оценивали аффинность связывания hFcRn с помощью ИФА.

[0224] Таким же образом, как описано выше, проводили оценку аффинности связывания hFcRn с помощью FACS при рН 6,0 и 7,4. Порядок аффинности связывания клонов был сходным между рН, и интенсивность связывания проявлялась при разных уровнях.

[0225] Кроме того, проводили оценку эффектов блокирования hFcRn для 33 клонов с помощью FACS при рН 6,0. Блокирование (%) рассчитывают на основе измеренного значения MFI. На основании результатов анализа % блокирования при концентрации 1667 пМ, клоны были разделены в сумме на следующие четыре группы: группа А: 70-100%; группа Б: 30-70%; группа С: 10-30%; и группа D: 10% или менее.

[0226] Для кинетического анализа клонов гибридомы с помощью ППР был иммобилизован человеческий FcRn, а затем проводили с использованием культуры гибридомы в качестве исследуемого вещества.

[0227] Среди пяти клонов гибридомы гены 18 клонов, не имеющие N-участка гликозилирования или свободного цистеина в последовательностях CDR групп А и В, разделенных в соответствии с результатами анализа эффекта блокирования hFcRn, были

преобразованы в полноразмерные последовательности человеческого IgG.

[0228] В частности, исследовали сходство аминокислотных последовательностей между VH и VL у 18 отобранных антител и группы антител зародышевой линии человека с использованием программы Ig BLAST с веб-страницы NCBI.

[0229] Для того чтобы клонировать гены восемнадцати антител человека, в оба конца генов были вставлены участки распознавания для ферментов рестрикции следующим образом: EcoRI/ApaI были вставлены в переменный домен тяжелой цепи (VH); EcoRI/XhoI были вставлены в переменный домен легкой цепи лямбда (VL(λ)); сайты распознавания рестриционных ферментов EcoRI/NheI были вставлены в переменный домен легкой цепи каппа (VL($\kappa\lambda$)) была связана с геном константной области легкой цепи (LC(λ)) человека во время клонирования генов, и генетическая последовательность переменного домена легкой цепи каппа (VL(κ)) была связана с геном константной области легкой цепи (LC(κ)) человека.

[0230] При клонировании в экспрессирующие векторы pCHO1.0 для экспрессии антител в животной клетке, гены легкой и тяжелой цепи были вставлены после расщепления рестриционными ферментами EcoRV, PacI, AvrII и BstZ17I. Чтобы проверить, соответствуют ли экспрессирующие векторы pCHO1.0, содержащие 18 выбранных генов антител человека, синтезированным генетическим последовательностям, проводили секвенирование ДНК.

[0231] С использованием экспрессирующих векторов pCHO1.0, которые представляют собой экспрессирующие системы для животных клеток, содержащие все гены легкой и тяжелой цепи антител, был экспрессирован весь IgG человека. Антитело человека получали путем транзientной трансфекции плазмидной ДНК каждого из антител в клетки CHO-S и очистки антитела, секретируемого в среду, с помощью колонки с белком А.

[0232] IgG человека инъецировали мышам Tg32 (Jackson Laboratory), экспрессирующим hFcRn (hFcRn+/+, h β 2m+/+, mFcRn-/-, m β 2m-/-), а затем 18 антител человека, превращенные в последовательности IgG человека вводили мышам, для того, чтобы изучить, будут ли антитела влиять на катаболизм человеческого IgG.

[0233] На основании результатов анализа *in vitro* для аффинности связывания (K_D) антигена и анализа аффинности связывания FcRn человека и блокирующего эффекта с помощью FACS, и анализа катаболизма IgG человека *in vivo*, выбирали четыре человеческих антитела к белкам FcRn (HL161A, HL161B, HL161C и HL161D) (фиг. 1). Кроме того, антитело HL161BK, не имеющее N-участка гликозилирования, получали путем замены аспарагина (N) в положении 83 переменного домена тяжелой цепи антитела HL161B на

лизин (K). Антитело HL161BKN (RVT-1401) также получали путем замены лизинов (K) в положениях 238 и 239 тяжелой цепи (т.е., в константной области тяжелой цепи IgG1) антитела HL161BK на аланины (A). Нуклеотидные последовательности, аминокислотные последовательность и последовательности CDR выбранных антител к FcRn человека показаны в таблицах 1-5.

Таблица 1. Полинуклеотидная последовательность переменных доменов тяжелой цепи и легкой цепи выбранных антител к человеческому FcRn

Название антитела	Последовательность переменного домена тяжелой цепи		Последовательность переменного домена легкой цепи	
	SEQ ID NO.	Полинуклеотидная последовательность	SEQ ID NO.	Полинуклеотидная последовательность
HL161A	1	GAAGTGCAGC TGCTGGAATC CGGCGGAGGC CTGGTGCAGC CTGGCGGCTC TCTGAGACTG TCCTGCGCCG CCTCCGAGTT CACCTTCGGC AGCTGCGTGA TGACCTGGGT CCGACAGGCT CCCGGCAAGG GCCTGGAATG GGTGTCCGTG ATCTCCGGCT CCGGCGGCTC CACCTACTAC GCCGACTCTG TGAAGGGCCG G TTCACCATC TCCCGGGACA	11	TCTTACGTGC TGACCCAGCC CCCCTCCGTG TCTGTGGCTC CTGGCCAGAC CGCCAGAATC ACCTGTGGCG GCAACAACAT CGGCTCCACC TCCGTGCACT GGTATCAGCA GAAGCCCGGC CAGGCCCCCG TGCTGGTGGT GCACGACGAC TCCGACCGGC CTTCTGGCAT CCCTGAGCGG TTCTCCGGCT CCA ACTCCGG CAACACCGCC ACCCTGACCA

		ACTCCAAGAA CACCTGTAC CTGCAGATGA ACTCCCTGCG GGCCGAGGAC ACCGCCGTGT ACTACTGCGC CAAGACCCCC TGGTGGCTGC GGTCCCCCTT CTTCGATTAC TGGGGCCAGG GCACCCTGGT GACAGTGTCC TCC		TCTCCAGAGT GGAAGCCGGC GACGAGGCCG ACTACTACTG CCAAGTGCGA GACTCCTCCT CCGACCACGT GATCTTCGGC GGAGGCACCA AGCTGACCGT GCTGGGCCAG CCTAAGGCCG CTCCCTCCGT GACCCTG
HL161B	3	CAACTGTTGC TCCAGGAATC CGGTCCTGGT CTTGTAAGC CATCTGAGAC TCTCTCCCTT ACCTGTACCG TTAGCGGAGG AAGTCTTTCC TCAAGCTTCT CCTACTGGGT GTGGATCAGA CAGCCTCCCG GAAAAGGGTT GGAGTGGATT GGCACAATAT ACTACTCCGG CAACACTTAC TATAACCCCA GCCTGAAGAG CAGGCTGACT	13	TCTTACGTGC TGACCCAGTC CCCCTCCGTG TCCGTGGCTC CTGGCCAGAC CGCCAGAATC ACCTGTGGCG GCAACAACAT CGGCTCCAAG TCCGTGCACT GGTATCAGCA GAAGCCCGGC CAGGCCCCCG TGCTGGTGGT GTACGACGAC TCCGACCGGC CCTCTGGCAT CCCTGAGCGG TTCTCCGCCT CCAACCTCCGG CAACACCGCC

		ATCTCTGTCTG ACACCAGTAA AAATCACTTT TCTCTGAATC TGTCTTCAGT GACCGCAGCC GACACCGCCG TGTATTATTG CGCTCGGCGC GCCGGGATTC TGACAGGCTA TCTGGATTCA TGGGGCCAGG GGACATTGGT TACAGTGTCT AGT		ACCCTGACCA TCTCCAGAGT GGAAGCCGGC GACGAGGCCG ACTACTACTG CCAAGTGTGG GACTCCTCCT CCGACCACGT GGTGTTCCGGC GGAGGCACCA AGCTGACCGT GCTGGGCCAG CCTAAGGCCG CTCCCTCCGT GACCCTG
HL161BK (HL161BKN)	5	CAGCTGCTGC TGCAAGAATC CGGCCCTGGC CTGGTGAAAC CCTCCGAGAC ACTGTCCCTG ACCTGCACCG TGTCCGGCGG CTCCCTGTCC TCCAGCTTCT CCTACTGGGT CTGGATCCGG CAGCCCCCTG GCAAGGGCCT GGAATGGATC GGCACCATCT ACTACTCCGG CAACACCTAC TACAACCCCA GCCTGAAGTC	15	TCTTACGTGC TGACCCAGTC CCCCTCCGTG TCCGTGGCTC CTGGCCAGAC CGCCAGAATC ACCTGTGGCG GCAACAACAT CGGCTCCAAG TCCGTGCACT GGTATCAGCA GAAGCCCAGG CAGGCCCCCG TGCTGGTGGT GTACGACGAC TCCGACCGGC CCTCTGGCAT CCCTGAGCGG TTCTCCGCCT CCAACTCCGG

		CCGGCTGACC ATCTCCGTGG ACACCTCCAA GAACCACTTC AGCCTGAAGC TGTCCCTCCGT GACCGCCGCT GACACCGCCG TGTACTACTG TGCCAGAAGG GCCGGCATCC TGACCGGCTA CCTGGACTCT TGGGGCCAGG GCACCCTGGT GACAGTGTCC TCC		CAACACCGCC ACCCTGACCA TCTCCAGAGT GGAAGCCGGC GACGAGGCCG ACTACTACTG CCAAGTGTGG GACTCCTCCT CCGACCACGT GGTGTTCCGGC GGAGGCACCA AGCTGACCGT GCTGGGCCAG CCTAAGGCCG CTCCCTCCGT GACCCTG
HL161C	7	CAGGTGCAGC TCGTGCAGTC CGGCGCAGAG GTCAAAAAGC CTGGTGCATC TGTGAAAGTG AGTTGCAAGG CTAGCGGCTA CACCTTTACC GGATGTTATA TGCATTGGGT ACGCCAAGCC CCCGGACAAG GCTTGGAATG GATGGGGCGT ATCAACCCAA ACTCTGGCGG GACTAATTAC GCCCAGAAGT	17	GACATCCAGA TGACCCAGTC ACCATCATCC CTTTCCGCAT CTGTCGGAGA TAGAGTGACT ATCACCTGCA GGGCTTCTCA AGGTATTTCC AACTACCTCG CCTGGTTCCA GCAAAAGCCA GGTAAAGCCC CAAAGAGCTT GATCTACGCC GCTTCTAGTC TGCAGAGTGG AGTTCCTAGT AAGTTCTCCG

		TTCAGGGAAG GGTGA CTATG ACAAGGGACA CATCCATATC CACCGCTTAT ATGGACCTGT CTCGACTGCG GTCTGATGAT ACAGCCGTTT ATTACTGCGC CAGAGACTAC AGCGGATGGA GCTTCGATTA TTGGGGGCAG GGTACTTTGG TCACAGTTTC AAGT		GCTCTGGCAG TGGCACAGAT TTACCTTGA CCATTTCCAG CCTGCAGTCT GAGGATTTGCG CTACCTACTA TTGTCAGCAG TATGACAGCT ATCCCCCAC ATTTGGGGGG GGCACTAAGG TGGAGATAAA ACGGACAGTG GCTGCCCTT CTGTCTTTAT T
HL161D	9	CAGCTGCAGT TGCAGGAGTC AGGCCCCGGT TTGGTTAAGC CTTCTGAAAC CCTTTCTCTC ACATGCACAG TATCCGGTGG CTCCATCTCC AGTTCAAGTT ACTACTGGGG ATGGATCCGG CAACCCCCAG GAAAAGGGCT GGAGTGGATT GGCAATATAT ATTACTCTGG GTCCACCTAT TACAACCCTT	19	AGCTATGAGC TGACCCAGCC TCTGAGCGTA TCTGTCGCTC TCGGCCAGAC AGCCAGAATT ACCTGTGGCG GCAATAACAT AGGATCCAAA AATGTTCACT GGTATCAGCA AAAACCTGGC CAAGCTCCCG TGCTCGTGAT CTACCGGGAC TCTAACCGAC CCAGTGAAT CCCCGAACGC TTAGCGGTT

	CCCTGATGAG TAGAGTGACC ATCAGCGTGG ACACAAGCAA AAACCAATTC AGCCTGAAGC TTTCTAGCGT GACCGCTGCC GACACAGCTG TCTATTA CTG TGCCCGCCAG CTTAGTTATA ACTGGAATGA TAGGCTGTTT GATTA CTGGG GCCAGGGGAC TCTCGTTACA GTCAGCAGC		CCAACTCTGG AAATACAGCT ACTCTGACTA TCTCCAGGGC TCAGGCCGGG GATGAGGCCG ATTA CTACTG CCAGGTGTGG GACTCAAGCA CAGTGGTCTT CGGCGGAGGT ACCAAGTTGA CTGTTCTTGG GCAGCCAAAG GCCGCACCTT CAGTGACCCT G
--	---	--	---

Таблица 2. Аминокислотные последовательности переменных доменов тяжелой цепи и легкой цепи выбранных антител к человеческому FcRn

Название антитела	Последовательность переменного домена тяжелой цепи		Последовательность переменного домена легкой цепи	
	SEQ ID NO.	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO.	Аминокислотная последовательность

HL161A	2	EVQLLES GGG LVQPGGSLRL SCAASEFTFG SCVMTWVRQA PGKGLEWVSV ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKTP WWLRSPFFDY WGQGTLVTVSS	12	SYVLTQPPSV SVAPGQTARI TCGGNNIGST SVHWYQQKPG QAPVLVHDD SDRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISRVEAG DEADYYCQVR DSSSDHVI FG GGTKLTVLGQ PKAAPSVTL
HL161B	4	QLLQESGPG LVKPSETLSL TCTVSGGSLS SSFSYWVWIR QPPGKLEWI GTIYYSGNTY YNPSLKSRLT ISVDTSKNHF SLNLSSVTAA DTAVYYCARR AGILTYLDS WGQGTLVTVSS	14	SYVLTQSPSV SVAPGQTARI TCGGNNIGSK SVHWYQQKPG QAPVLVVYDD SDRPSGIPER FSASNSGNTA TLTISRVEAG DEADYYCQVW DSSSDHV VFG GGTKLTVLGQ PKAAPSVTL

HL161BK (HL161BKN)	6	QLLQESGPG LVKPSETLSL TCTVSGGSL SSFSYWVWIR QPPGKGLEWI GTIYYSGNTY YNPSLKSRLT ISVDTSKNHF SLKLSSVTAA DTAVYYCARR AGILTYLDS WGQGTTLVTVSS	16	SYVLTQSPSV SVAPGQTARI TCGGNNIGSK SVHWYQQKPG QAPVLVYDD SDRPSGIPER FSASNSGNTA TLTISRVEAG DEADYYCQVW DSSSDHVVFQ GGTKLTVLGG PKAAPSVTL
HL161C	8	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT GCYMHWVRQA PGQGLEWMGR INPNSGGTNY AQKFQGRVTM TRDTSISTAY MDLSRLRSDD TAVYYCARDY SGWSFDYWGQ GTLVTVSS	18	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS NYLAWFQQKP GKAPKSLIYA ASSLQSGVPS KFSGSGSGTD FTLTISSLQS EDFATYYCQQ YDSYPPTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFI

HL161D	10	QLQLQESGPG LVKPSETLSL TCTVSGGSIS SSSYWGWIR QPPGKGLEWI GNIYYSGSTY YNPSLMSRVT ISVDTSKNQF SLKLSSVTAA DTAVYYCARQ LSYNWDRLF DYWGQGTSLVT VSS	20	SYELTQPLSV SVALGQTARI TCGGNNIGSK NVHWYQQKPG QAPVLVIYRD SNRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISRAGAG DEADYYCQVW DSSTVVFGGG TKLTVLGQPK AAPSVTL
--------	----	---	----	---

Таблица 3. Полинуклеотидные последовательности полноразмерных тяжелой цепи и легкой цепи выбранных антител к человеческому FcRn

Названи е антитела	Последовательность тяжелой цепи		Последовательность легкой цепи	
	SEQ ID NO.	Полинуклеотидная последовательность	SEQ ID NO.	Полинуклеотидная последовательность
HL161B KN	45	CAG CTG CTG CTG CAA GAA TCC GGC CCT GGC CTG GTG AAA CCC TCC GAG ACA CTG TCC CTG ACC TGC ACC GTG TCC GGC GGC TCC CTG TCC TCC AGC TTC TCC TAC TGG GTC TGG ATC CGG CAG CCC CCT GGC AAG GGC CTG GAA TGG ATC GGC ACC ATC TAC TAC TCC GGC AAC ACC TAC TAC AAC CCC AGC CTG AAG TCC CGG CTG ACC ATC TCC GTG GAC ACC TCC AAG AAC CAC TTC AGC CTG AAG CTG TCC TCC GTG ACC GCC GCT	47	TCT TAC GTG CTG ACC CAG TCC CCC TCC GTG TCC GTG GCT CCT GGC CAG ACC GCC AGA ATC ACC TGT GGC GGC AAC AAC ATC GGC TCC AAG TCC GTG CAC TGG TAT CAG CAG AAG CCC GGC CAG GCC CCC GTG CTG GTG GTG TAC GAC GAC TCC GAC CGG CCC TCT GGC ATC CCT GAG CGG TTC TCC GCC TCC AAC TCC GGC AAC ACC GCC ACC CTG ACC

	<p>GAC ACC GCC GTG TAC TAC TGT GCC AGA AGG GCC GGC ATC CTG ACC GGC TAC CTG GAC TCT TGG GGC CAG GGC ACC CTG GTG ACA GTG TCC TCC GCC TCC ACC AAG GGC CCC TCC GTG TTC CCT CTG GCC CCC TCC AGC AAG TCC ACC TCT GGC GGC ACC GCT GCC CTG GGC TGT CTG GTG AAA GAC TAC TTC CCC GAG CCC GTG ACC GTG TCC TGG AAC TCT GGC GCC CTG ACC TCC GGC GTG CAC ACC TTC CCT GCC GTG CTG CAG TCC TCC GGC CTG TAC TCC CTG TCC AGC GTG GTG ACC GTG CCC TCC AGC TCT CTG GGC ACC CAG ACC TAC ATC TGC AAC GTG AAC CAC AAG CCC TCC AAC ACC AAG GTG GAC AAG CGG GTG GAA CCC AAG TCC TGC GAC AAG ACC CAC ACC TGT CCC CCC TGT CCT GCC CCT GAA GCT GCT GGC GGC CCT AGC GTG TTC CTG TTC CCC CCA AAG CCC AAG GAC ACC CTG</p>	<p>ATC TCC AGA GTG GAA GCC GGC GAC GAG GCC GAC TAC TAC TGC CAA GTG TGG GAC TCC TCC TCC GAC CAC GTG GTG TTC GGC GGA GGC ACC AAG CTG ACC GTG CTG GGC CAG CCT AAG GCC GCT CCC TCC GTG ACC CTG TTC CCC CCA TCC TCC GAG GAA CTG CAG GCC AAC AAG GCC ACC CTG GTC TGC CTG ATC TCC GAC TTC TAC CCT GGC GCC GTG ACC GTG GCC TGG AAG GCC GAC AGC TCT CCT GTG AAG GCC GGC GTG GAA ACC ACC ACC CCC TCC AAG CAG TCC AAC AAC AAA TAC GCC GCC TCC TCC TAC CTG TCC CTG ACC CCC GAG CAG TGG AAG TCC CAC CGG TCC TAC AGC TGC CAA GTG ACA CAC GAG GGC TCC ACC GTG GAA AAG ACC GTG GCC CCT ACC GAG</p>
--	--	--

	<p> ATG ATC TCC CGG ACC CCC GAA GTG ACC TGC GTG GTG GTG GAC GTG TCC CAC GAG GAC CCT GAA GTG AAG TTC AAT TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAA GTG CAC AAC GCC AAG ACC AAG CCC AGA GAG GAA CAG TAC AAC TCC ACC TAC CGG GTG GTG TCC GTG CTG ACC GTG CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAC GGC AAA GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAG GCC CTG CCT GCC CCC ATC GAA AAG ACC ATC TCC AAG GCC AAG GGC CAG CCC CGC GAG CCC CAG GTG TAC ACA CTG CCC CCT AGC CGG GAA GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTG TCC CTG ACA TGC CTG GTG AAG GGC TTC TAC CCC TCC GAC ATT GCC GTG GAA TGG GAG TCC AAC GGC CAG CCC GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACC CCC CCT GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCA TTC TTC CTG TAC TCC AAG CTG ACC </p>	<p>TGC TCC</p>
--	--	----------------

	GTG GAC AAG TCC CGG TGG CAG CAG GGC AAC GTG TTC TCC TGC TCC GTG ATG CAC GAG GCC CTG CAC AAC CAC TAC ACC CAG AAG TCC CTG TCC CTG AGC CCC GGC	
--	--	--

Таблица 4. Аминокислотные последовательности полноразмерных тяжелой цепи и легкой цепи выбранных антител к человеческому FcRn

Название антитела	Последовательность тяжелой цепи		Последовательность легкой цепи	
	SEQ ID NO.	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO.	Аминокислотная последовательность
HL161BKN	46	QLLQESGPG LVKPSETLSL TCTVSGGSLS SSFSYWVWIR QPPGKGLEWI GTIYYSGNTY YNPSLKSRLT ISVDTSKNHF SLKLSSVTAA DTAVYYCARR AGILTGYLDS WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP	8	SYVLTQSPSV SVAPGQTARI TCGGNNIGSK SVHWYQQKPG QAPVLVYDD SDRPSGIPER FSASNSGNTA TLTISRVEAG DEADYYCQVW DSSSDHVVFV GGTKLTVLGQ PKAAPSVTLF PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS

	SNTKVDKRVE PKSCDKTHTC PPCAPEAAG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTPP VLDSGGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG		
--	---	--	--

Таблица 5. Последовательности CDR переменных доменов тяжелой цепи и легкой цепи выбранных антител к человеческому FcRn

Антитело	CDR переменного домена тяжелой цепи			CDR переменного домена легкой цепи		
	CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
SEQ ID NO.	21	22	23	24	25	26

HL161A	SCV MT	VISGSGG STYYADS VKG	TPWWLR SPFFDY	GGNNIG STSVH	DDSDRP S	VRDSSSD HVI
SEQ ID NO.	27	28	29	30	31	32
HL161B (HL161BK) (HL161BKN)	FSY WV	TIYYSGN TYYNPSL KS	RAGILTG YLDS	GGNNIG SKSVH	DDSDRP S	QVWDSSS DHSV
SEQ ID NO.	33	34	35	36	37	38
HL161C	GCY MH	RINPNSG GTNYAQ KFQG	DYSGWS FDY	RASQGIS NYLA	AASSLQ S	QQYDSYP PTF
SEQ ID NO.	39	40	41	42	43	44
HL161D	SY WG	NIYYSGS TYYNPSL MS	QLSYNW NDRLFDY	GGNNIG SKNVH	RDSNRP S	QVWDSS TVV

Пример 4: Измерение аффинности связывания антигена антителами HL161A, HL161B, HL161C и HL161D путем поверхностного плазмонного резонанса (ППР)

[0234] Аффинности связывания антител HL161A, HL161B, HL161C и HL161D измеряли с помощью ППР путем иммобилизации водорастворимого hFcRn в качестве лиганда на чипе Proteon GLC (Bio-Rad) и измерения аффинности. Кинетический анализ проводили с использованием системы Proteon XPR36. Водорастворимый человеческий FcRn (shFcRn) был иммобилизован на чипе GLC, и образец антитела оставляли для реакции при концентрации из пяти, и получали результаты сенсограммы. В кинетическом анализе использовали модель связывания Ленгмюра 1:1, анализ повторяли шесть раз при каждом из значений pH 6,0 и pH 7,4, и вычисляли среднее значение K_D . После стадии иммобилизации чип активировали в условиях EDAC/NHS 0,5×, 30 мкл/мин и 300 секунд. Для иммобилизации shFcRn разбавляли ацетатным буфером (pH 5,5) до концентрации 2 мкг/мл и 250 мкл, и позволяли разведению стекать на чип со скоростью 30 мкл/мин. При достижении уровня иммобилизации 200-300 PE реакцию останавливали. Затем проводили дезактивацию этаноламином из расчета 30 мкл/мин в течение 300 секунд. Каждое антитело HL161 последовательно разбавляли в 2 раза от концентраций 10 нМ до 5 нМ, 2,5 нМ, 1,25 нМ, 0,625 нМ, 0,312 нМ и т.д., тем самым получая образцы. Разведение образцов проводили с использованием 1× PBST (pH 7,4) или 1× PBST (pH 6,0) при каждом pH. Для анализа образцов проводили ассоциацию по 50 мкл/мин в течение 200 секунд, а диссоциацию проводили по 50 мкл/мин в течение 600 секунд, после чего проводили регенерацию с

использованием глицинового буфера (рН 2,5) по 100 мкл/мин в течение периода 18 секунд. Кинетический анализ каждого образца повторяли шесть раз, а затем измеряли среднее значение аффинности связывания антигена (K_D). Кинетические параметры антитела, полученные в результате анализа ППР, приведены в таблице 6 (фиг. 2А-ФИГ. 2Н).

Таблица 6. Результаты кинетического анализа антитела путем ППР с иммобилизованным человеческим FcRn

Антитело	рН 6,0			рН 7,4		
	$k_{on}(M^{-1}сек^{-1})$	$k_{off}(s^{-1})$	$K_D(M)$	$k_{on}(M^{-1}сек^{-1})$	$k_{off}(s^{-1})$	$K_D(M)$
HL161A	$1,81 \times 10^6$	$3,26 \times 10^{-4}$	$1,80 \times 10^{-10}$	$1,32 \times 10^6$	$3,27 \times 10^{-4}$	$2,47 \times 10^{-10}$
HL161B	$9,12 \times 10^5$	$7,35 \times 10^{-4}$	$8,07 \times 10^{-10}$	$7,10 \times 10^5$	$1,25 \times 10^{-3}$	$1,76 \times 10^{-9}$
HL161C	$1,74 \times 10^6$	$3,32 \times 10^{-4}$	$1,91 \times 10^{-10}$	$1,36 \times 10^6$	$3,16 \times 10^{-4}$	$2,32 \times 10^{-10}$
HL161D	$9,70 \times 10^5$	$1,38 \times 10^{-3}$	$1,43 \times 10^{-9}$	$6,99 \times 10^5$	$1,24 \times 10^{-3}$	$1,78 \times 10^{-9}$
hIgG ₁	$3,2 \times 10^5$	$4,6 \times 10^{-4}$	$1,4 \times 10^{-9}$	Нет связывания	Нет связывания	Нет связывания

Пример 5: Анализ связывания антител HL161A и HL161B с человеческим FcRn при помощи FACS

[0235] С использованием клеток НЕК293, стабильно экспрессирующих FcRn человека, анализировали связывание с FcRn при каждом рН при помощи системы FACS. Тест связывания FcRn с использованием FACS проводили в реакционном буфере при рН 6,0 и рН 7,4. В частности, 100000 клеток НЕК293, стабильно экспрессирующих FcRn человека, отмывали с буфером PBS и центрифугировали в настольной микроцентрифуге при 4500 об./мин. в течение пяти минут для получения осадка клеток. Антитело добавляли к 100 мкл PBS/10 mM ЭДТА с рН 6,0 или рН 7,4. Оставшиеся осадки клеток суспендировали в реакционном буфере и проводили подсчет клеток. 10 мкл клеточной суспензии добавляли на предметное стекло, и подсчитывали количество клеток в клеточной суспензии в системе ТС10, после чего клеточную суспензию разбавляли реакционным буфером до концентрации клеток 2×10^6 клеток/мл. Каждый образец антитела разбавляли до 500 нМ. Для анализа при рН 6,0 разведение разбавляли до 20 нМ в 96-луночном v-донном планшете и добавляли по 50 мкл разведения в каждую лунку. Для анализа при рН 7,4 500 нМ образца антитела разбавляли 3-кратными сериями разведения, и анализировали при концентрациях в пределах от 250 нМ до 0,11 нМ. 50 мкл клеток, разведенных до 2×10^6 клеток/мл, добавляли в каждую лунку и суспендировали. Планшет устанавливали на ротатор при 4 и вращали под углом 15° при 10 об./мин. в течение 90 минут. После завершения реакции планшет снимали с ротатора и центрифугировали при 2000 об./мин. в течение 10 минут, и удаляли

супернатант. Козлиное антитело A488 к hIgG разбавляли в соотношении 1:200 в реакционном буфере, и 100 мкл разведенного антитела добавляли в каждую лунку и суспендировали. Далее планшет снова устанавливали на ротатор при 4 и вращали под углом 15° при 10 об./мин. в течение 90 минут. После завершения реакции планшет вынимали из ротатора и центрифугировали при 2000 об./мин. в течение 10 минут, и супернатант удаляли. После повторного промывания в каждую лунку добавляли по 100 мкл реакционного буфера для растворения клеточного осадка, и планшет переносили в синюю тестовую пробирку. Далее в каждую лунку добавляли по 200 мкл реакционного буфера, а затем проводили измерение в FACS. Измерения FACS проводили в следующих условиях: FS 108 вольт, SS 426 вольт, FL1 324 вольт, FL2 300 вольт. Эти клетки анализировали с помощью FACS с использованием программного обеспечения BD FACSDiva™ v6.1.3 (BD Bioscience). Результаты выражали в виде средней интенсивности флуоресценции (MFI) (рис. 3). Антитела HL161A и HL161B показали значения MFI 10,59 и 8,34, соответственно, при концентрации 10 нМ и pH 6,0. При pH 7,4 и концентрации 0,11-250 нМ антитела показали значения EC₅₀ (эффективная концентрация 50%) 2,46 нМ и 1,20 нМ, соответственно, по анализу четырех параметров логистической регрессии с использованием значений MFI.

Пример 6: Анализ блокирующих эффектов антител HL161A и HL161B при помощи FACS

[0236] Клетки HEK293, которые экспрессируют hFcRn на клеточной поверхности, обрабатывали антителами HL161A и HL161B (ранее проанализированные на предмет их аффинности связывания с FcRn человека на клеточной поверхности), а блокирующие эффекты антител исследовали на основе снижения связывания hIgG1, меченного Alexa-Fluo-488. Анализ проводили следующим образом:

[0237] 2 мл 1× TE добавляли к каждому типу наивных клеток HEK293 и клеток HEK293, стабильно экспрессирующих FcRn человека, которые инкубировали в инкубаторе с 5% CO₂ при 37 в течение одной минуты. Клетки извлекали из колб, к ним добавляли 8 мл реакционного буфера (pH 6,0), после чего клетки переносили в конические пробирки на 50 мл. Клеточную суспензию центрифугировали при 2000 об./мин. в течение пяти минут для удаления супернатанта и добавляли 1 мл реакционного буфера (pH 6,0) к каждому клеточному осадку. Затем клеточную суспензию переносили в чистую пробирку эппендорф на 1,5 мл. Далее клеточную суспензию центрифугировали при 4000 об./мин. в течение 5 минут, и удаляли супернатант. Затем к оставшимся клеточным осадкам добавляли реакционный буфер (pH 6,0) и подсчитывали число клеток в клеточных суспензиях. Наконец, клеточную суспензию разбавляли реакционным буфером до концентрации клеток

$2,5 \times 10^6$ клеток/мл.

[0238] Каждый образец антитела разбавляли до 400 нМ, а затем проводили 4-кратное серийное разведение в 96-луночном V-донном планшете. В каждую лунку добавляли 50 мкл образца, разбавленного до конечной концентрации от 200 нМ до 0,01 нМ. Затем в каждую лунку вносили по 10 мкл Alex488-hIgG1, разведенного 1 мкМ реакционного буфера (pH 6,0). Наконец, 40 мкл клеток, разведенных до концентрации клеток $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, добавляли в каждую лунку и суспендировали. Планшет устанавливали на ротатор при 4 и вращали под углом 15° при 10 об./мин. в течение 90 минут. После завершения реакции планшет снимали с ротатора и центрифугировали при 2000 об./мин. в течение 10 минут для удаления супернатанта. 100 мкл реакционного буфера добавляли в каждую лунку для растворения осадка клеток, а планшет переносили в синюю тестовую пробирку. Затем в каждую лунку добавляли по 200 мкл реакционного буфера и проводили измерения в FACS. Измерения FACS проводили в следующих условиях: FS 108 вольт, SS 426 вольт, FL1 324 вольт, FL2 300 вольт. Эти клетки анализировали с помощью FACS с использованием программного обеспечения BD FACSDiva™ v6.1.3 (BD Bioscience). Результаты выражали в виде средней интенсивности флуоресценции (MFI). MFI исследуемой группы обрабатывали после вычитания измеренного значения MFI клеток по отдельности (фоновый сигнал). Рассчитывали процент MFI пробирки, содержащей конкурента, относительно 100% контрольной пробирки (только Alexa Fluor 488, без конкурента).

$$\text{Блокирование (\%)} = \left\{ \frac{\text{MFI hFcRn стаб. (Конкурент + A488-hIgG1)} - \text{MFI HEK293 (A488-hIgG1)}}{\text{MFI hFcRn стаб. (A488-hIgG1)} - \text{MFI HEK293 (A488-hIgG1)}} \right\} \times 100$$

[0239] Когда MFI был ниже, чем MFI пробирки, содержащей конкурент IgG1 человека, конкурентное антитело оценивали как имеющее высокий уровень конкуренции. На основании измеренных блокирующих эффектов (%) антител HL161A и HL161B в условиях pH 6,0 и при концентрациях 0,01-200 нМ, проводили 4-параметрическую логистическую регрессию. В результате показано, что антитела HL161A и HL161B показали значения IC_{50} (ингибирующая концентрация 50%) 0,92 нМ и 2,24 нМ, соответственно (рис. 4).

Пример 7: Тест на эффекты HL161A и HL161B у трансгенных мышей 32 mFcRn -/- hFCRN (Tg32)

[0240] IgG человека инъецировали мышам Tg32, экспрессирующим FcRn человека (hFcRn+/+, hβ2m+/+, mFcRn-/-, mβ2m-/-) (Jackson Laboratory), а затем мышам вводили HL161A и HL161B вместе с IgG человека, чтобы выяснить, повлияют ли антитела на катаболизм IgG человека.

[0241] Антитела HL161A и HL161B и IgG человека (Greencross, IVglobulinS)

распределяли на 4-суточное введение в дозах 5, 10 и 20 мг/кг и хранили, и в качестве носителя использовали буфер PBS (фосфатно-солевой буфер) (рН 7,4), а в качестве контроля 20 мг/кг IgG1. Мышей Tg32 с человеческим FcRn адаптировали в течение приблизительно семи суток и давали еду и воду без ограничений. Автоматически контролировали температуру (23 ± 2 °C), влажность ($55 \pm 5\%$) и циклы 12 часов свет/12 часов темнота. Каждая группа животных состояла из четырех мышей. Для использования IgG человека в качестве индикатора получали биотин-конъюгированный hIgG с использованием набора (Pierce, Кат. № 21327). В час 0 вводили интраперитонеально 5 мг/кг биотина-hIgG и 495 мг/кг IgG человека для насыщения IgG *in vivo*. Через 24, 48, 72 и 96 часов после введения биотина-IgG каждое лекарственное средство вводили внутривентриально в дозах 5, 10 и 20 мг/кг один раз в сутки. Для забора крови мыши были слегка анестезированы изофлураном (JW Pharmacevitchesk), а затем кровь собирали из ретроорбитального сплетения с помощью гепаринизированной микрогематокритной капиллярной трубки (Fisher) через 24, 48, 72, 96, 120 и 168 часов после введения биотина-IgG. В часы 24, 48, 72 и 96 после сбора крови вводили лекарственное средство. Сразу после этого 0,1 мл цельной крови получали в пробирку эппендорф, плазму разделяли с помощью центрифугирования и хранили в глубокой морозильной камере (термо) при -70 °C до анализа.

[0242] Уровень биотина-hIgG1 в собранной крови анализировали с помощью ИФА следующим образом. 100 мкл нейтравидина (Pierce, 31000) добавляли в 96-луночный планшет (Costar, Кат. №: 2592) до концентрации 1,0 мкг/мл, а затем покрывали при 4 °C в течение 16 часов. Планшет трижды промывали буфером А (0,05% Твин-20, 10 мМ PBS, рН 7,4), и затем инкубировали в содержащем 1% БСА буфере PBS (рН 7,4) при комнатной температуре в течение двух часов. Далее планшет трижды промывали буфером А, а затем готовили планшет с нейтравидином с содержащим 0,5% БСА буфером PBS (рН 7,4) до концентрации 1 мкг/мл. Образец крови серийно разводили в 500-1000 раз в буфере В (100 мМ MES, 150 мМ NaCl, 0,5% BSA IgG-free, 0,05% Tween-20, рН 6,0), и 150 мкл разведения добавляли в каждую лунку планшета. Добавленный образец оставляли для реакции при комнатной температуре в течение одного часа. Далее планшет трижды промывали буфером А, а затем в каждую лунку добавляли по 200 мкл 1 нМ HRP-конъюгированного козьиного антитела к IgG человека и инкубировали при 37°C в течение двух часов. Затем планшет трижды промывали ледяным буфером В, а затем добавляли в каждую лунку 100 мкл субстратного раствора тетраметилбензидина (RnD, Кат. №: DY999) и оставляли реагировать при комнатной температуре в течение 15 минут. 50 мкл 1,0М раствора серной кислоты (Samchun, Кат. No: S2129) добавляли в каждую лунку для остановки реакции, после чего измеряли оптические плотности при 450 нм. Концентрацию биотина-IgG через 24 часа

(приблизительно T_{max} биотина-IgG у мышей; до наступления катаболизма биотина-IgG) устанавливали как 100%, и анализировали проценты концентрации в другие моменты времени относительно концентрации через 24 часа. Периоды полувыведения носителя и контрольного IgG1 20 мг/кг составили 103 часа и 118 часов, соответственно. Периоды полувыведения IgG с антителом HL161A составляли 30, 23 и 18 часов при различных дозах. Кроме того, антитело HL161B показало время полувыведения IgG 41, 22 и 21 час (фиг. 5А и ФИГ. 5В).

Пример 8: Исследование эффектов HL161A и HL161B у обезьяны

[0243] При помощи яванских макак, имеющих гомологию 96% с человеческим FcRn, анализировали уровни IgG, IgA, IgM и альбумина при введении антител HL161A и HL161B и фармакокинетические (ФК) профили антител.

1) Анализ изменения экспрессии иммуноглобулина G в крови обезьяны

[0244] Сначала, изменение IgG у обезьян измеряли анализом ИФА. 100 мкл антитела к человеческому Fc IgG (BELLLab, A80-104A) загружали в каждую лунку 96-луночного планшета (Costar, Кат. №: 2592) до концентрации 4,0 мкг/мл, затем покрывали при 4 °C в течение 16 часов. Планшет трижды промывали промывочным буфером (0,05% Tween-20, 10 mM PBS, pH 7,4), а затем инкубировали с содержащим 1% BSA буфером PBS (pH 7,4) при комнатной температуре в течение 2 часов. Стандартные IgG обезьяны использовали при концентрации 3,9-500 нг/мл, и образцы крови разбавляли в 80000 раз кратно в содержащем 1% BSA буфере PBS (pH 7,4), а разведение загружали в планшет и инкубировали при комнатной температуре в течение 2 часов. Далее планшет трижды промывали промывочным буфером, а затем в планшет загружали 100 мкл 20000-кратного разведения антитела к hIgG (Biorad, 201005) и оставляли реагировать при комнатной температуре в течение одного часа. После промывания каждого планшета, в планшет загружали 100 мкл субстратного раствора 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (RnD, Кат. No: DY999) и оставляли реагировать при комнатной температуре в течение 7 минут, после чего 50 мкл 1,0 M раствора серной кислоты (Samchun, Кат. No: S2129) добавляли в каждую лунку для остановки реакции. Для анализа измеряли оптическую плотность (OD) с использованием считывателя оптической плотности при 450 нм и 540 нм (MD, модель: VersaMax). Изменение (%) уровня IgG обезьяны при введении антител HL161A и HL161B показано в таблице 7 и на фиг. 6А-6С.

Таблица 7. Изменения (%) уровня IgG обезьяны при введении HL161A и HL161B

Сутки	Носитель	HL161A		HL161B	
		5 мг/кг	20 мг/кг	5 мг/кг	20 мг/кг

0 сутки	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
0,5 суток	99,0±4,8	81,5±1,8	101,5±9,0	94,3±5,4	96,2±3,0
1 сутки	97,6±15,9	67,2±2,0	86,2±11,9	83,9±24,7	94,1±7,0
2 сутки	97,8±6,2	63,0±3,3	74,2±14	73,7±11,3	71,7±5,4
3 сутки	104,5±13,1	61,8±8,0	59,2±11,0	68,3±9,3	61,3±6,0
4 сутки	100,9±16,7	55,3±4,1	45,1±4,6	65,5±12,2	44,3±5,6
5 сутки	103,4±12,5	60,8±8,3	38,8±4,9	65,0±11,9	38,4±3,7
6 сутки	113,3±8,5	64,9±11,7	39,7±6,4	66,4±11,3	39,0±5,4
7 сутки	116,9±23,3	58,7±4,7	39,6±5,4	61,4±8,0	37,5±3,2
7,5 суток	92,4±10,4	51,2±7,2	38,7±7,8	62,8±8,3	39,3±0,4
8 сутки	94,6±8,7	48,0±9,3	36,1±5,3	60,7±7,5	39,6±5,9
9 сутки	117,6±14,3	47,1±4,4	33,8±5,0	54,3±6,9	31,0±3,1
10 сутки	115,1±16,7	49,7±8,9	29,6±5,8	53,6±4,9	32,8±4,3
11 сутки	114,6±18,9	47,7±4,2	30,4±6,5	54,7±4,2	39,9±9,1
12 сутки	109,5±13,1	51,7±3,1	32,9±5,7	56,5±4,7	46,7±9,1
13 сутки	111,1±21,2	52,9±6,4	35,7±9,2	58,7±3,8	45,4±7,6
14 сутки	128,9±17,7	54,7±4,2	37,8±9,6	60,6±4,2	53,8±11,3
17 сутки	95,6±6,6	59,5±10,3	40,2±7,4	56,7±4,4	48,4±10,0
20 сутки	92,5±8,4	62,4±6,7	47,6±8,9	61,8±6,0	54,0±9,5
23 сутки	107,1±15,2	71,9±6,5	61,8±13,3	64,9±4,4	56,8±6,0
26 сутки	104,0±5,6	77,7±6,8	72,2±22,4	70,8±7,4	62,4±5,8
29 сутки	102,4±8,3	81,4±6,7	77,9±20,5	74,8±5,1	65,4±10,8

2) Анализ фармакокинетических профилей HL161A и HL161B в крови обезьяны

[0245] Зависимые от времени фармакокинетические профили (ФК) HL161A и HL161B после внутривенного введения анализировали с помощью конкурентного ИФА. В частности, готовили раствор 2 мкг/мл нейтравидина, а затем 100 мкл раствора покрывали каждую лунку 96-луночного планшета и инкубировали при 4 °C в течение 18 часов. Планшет промывали три раза 300 мкл промывочного буфера (0,05% Tween 20, содержащего 10 мМ PBS, pH 7,4), а затем каждую лунку инкубировали с 1% BSA-содержащим буфером PBS (pH

7,4) при 25 °C в течение двух часов. Биотинилированный hFcRn разбавляли PBS до 1 мкг/мл, а затем 100 мкл разведения добавляли в каждую лунку 96-луночного планшета и инкубировали при 25 °C в течение одного часа. Далее планшет трижды промывали 300 мкл промывочного буфера для удаления несвязавшегося hFcRn, а затем стандартный образец (0,156-20 нг/мл) добавляли в каждую лунку и инкубировали при 25 °C в течение двух часов. Далее планшет трижды промывали промывочным буфером, в каждую лунку добавляли по 100 мкл разведения 1:10000 детектирующего антитела в PBS и инкубировали при 25 °C в течение 1,5 часов. Затем планшет трижды промывали, в каждый буфер добавляли по 100 мкл раствора ТМВ и инкубировали при комнатной температуре в течение пяти минут, после чего в каждую лунку добавляли по 50 мкл 1М раствора серной кислоты для остановки реакции. Далее, измеряли оптическую плотность при 450 нм с помощью микропланшетного спектрофотометра. Результаты анализа для фармакокинетических профилей HL161A и HL161B в различных дозах приведены в таблице 8 и на фмг. 7А-7В.

Таблица 8. Анализ результатов для фармакокинетических профилей HL161A и HL161B при различных дозах

Антитело (доза)	Сутки	C _{max} (мг/мл)	AUC (мг/мл. час)	T _{1/2} (час)
HL161A (5 мг/кг)	0-7	157±31	1,601±501	6,9±0,9
	7-14	157±25	1,388±334	10,3±2,8
HL161A (20 мг/кг)	0-7	692±138	13,947±2,459	9,0±0,6
	7-14	724±125	12,699±2,114	7,6±1,6
HL161B (5 мг/кг)	0-7	178±56	2,551±1,356	7,9±1,3
	7-14	187±9	2,772±466	9,4±0,5
HL161B (20 мг/кг)	0-7	823±38	21,867±1,088	11,7±1,0
	7-14	868±66	16,116±1,501	6,8±0,9

3) Анализ изменения уровней антител IgM и IgA в крови обезьяны

[0246] Анализ ИФА для измерения уровней IgM и IgA в крови обезьяны проводили аналогично способу ИФА для измерения уровней IgG. Конкретно, 100 мкл антитела к IgM обезьяны (Alfa Diagnostic, 70033) или антитела к IgA обезьяны (Alfa Diagnostic, 70043) добавляли в каждую лунку 96-луночного планшета до концентрации 2,0 мкг/мл и покрывали при 4 °C в течение 16 часов. Планшет трижды промывали промывочным буфером (0,05% Tween-20, содержащим 10 mM PBS, pH 7,4), а затем инкубировали с 1% BSA-содержащим буфером PBS (pH 7,4) при комнатной температуре в течение 2 часов. Стандартный IgM обезьяны анализировали при концентрации 7,8-1000 нг/мл, а IgA

анализировали при концентрации 15,6-2000 нг/мл. Образец крови разбавляли 10000- или 20000-кратно в 1% БСА-содержащем буфере PBS (pH 7,4), и разведение добавляли в каждую лунку и инкубировали при комнатной температуре в течение 2 часов. Далее планшет трижды промывали промывочным буфером, а затем по 100 мкл 5000-кратного разведения каждого из вторичного антитела к IgM обезьяны (Alfa Diagnostic, 70031) и вторичного антитела к IgA обезьяны (KPL, 074-11-011) добавляли в каждую лунку и оставляли для реакции при комнатной температуре в течение одного часа. Наконец, планшет промывали три раза и добавляли по 100 мкл субстратного раствора 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (RnD, Кат. №: DY999) в каждую лунку и оставляли реагировать при комнатной температуре в течение 7 минут. Далее в каждую лунку добавляли по 50 мкл 1,0М раствора серной кислоты (Samchun, Кат. No: S2129) для остановки реакции. Оптическая плотность каждой лунки измеряли считывателем оптической плотности при 450 и 540 нм (MD, модель: VersaMax).

4) Анализ изменения уровней альбумина в крови обезьяны

[0247] Анализ изменения уровней альбумина в крови обезьяны проводили с использованием коммерческого набора ИФА (Assaypro, Кат. №: ЕКА2201-1). В кратком изложении сыворотку обезьяны как тестируемый образец разводили в 4000 раз, и по 25 мкл этого разведения добавляли в каждую лунку 96-луночного планшета, покрытого антителом, способным связываться с альбумином обезьяны. 25 мкл раствора биотинилированного обезьяньего альбумина добавляли в каждую лунку и инкубировали при 25 °C в течение двух часов. Планшет трижды промывали 200 мкл промывочного буфера, а затем 50 мкл разведения 1:100 антитела, конъюгированного со стрептавидин-пероксидазой, добавляли в каждую лунку и инкубировали при 25 °C в течение 30 минут. Затем планшет трижды промывали, затем в каждую лунку добавляли по 50 мкл субстрата и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут. Затем в каждую лунку добавляли 50 мкл раствора, останавливающего реакцию, и измеряли оптическую плотность при 450 нм. Изменение (%) уровней IgM, IgA и альбумина у обезьян при введении антител HL161A и HL161B показано на фиг. 8А-8С.

5) Анализ биохимических уровней в крови и компонентов мочи

[0248] И, наконец, проводили биохимический анализ крови и анализ мочи при введении антител с использованием образцов на сутки 14 исследования. Биохимические маркеры крови, в том числе аспаратаминотрансферазу (АСТ), аланинаминотрансферазу (АЛТ), щелочную фосфатазу (ЩФ), креатинфосфокиназу (КФК), общий билирубин (ТБИЛ), глюкозу (GLU), общий холестерин (ТЧО), триглицерид (ТГ), общий белок (ТР), альбумин (Alb), альбумин/глобулин (А/Г), мочевины крови, азот (BUN), креатинин (CRE),

неорганический фосфор (IP), кальций (Ca), натрий (Na), калий (K) и хлорид (Cl), анализировали с использованием системы Hitachi 7180. Кроме того, маркеры для анализа мочи, в том числе лейкоциты (LEU), нитраты (NIT), уробилиноген (URO), белок (PRO), pH, скрытую кровь (BLO), удельную плотность (SG), кетоновые тела (KET), билирубин (BIL), глюкозу (GLU) и аскорбиновую кислоту (ASC), анализировали с помощью системы Mission U120. Измеренные уровни, как правило, находились в пределах нормальных диапазонов уровней у яванских макаков.

Пример 9: Оценка RVT-1401 (HL161BKN) у здоровых людей после подкожного (п/к) или внутривенного (в/в) введения

[0249] Для оценки безопасности, переносимости, фармакокинетики (ФК), фармакодинамики (ФД) и иммуногенности RVT-1401 (HL161BKN) после однократной (в/в и п/к) и многократных (п/к) доз, RVT-1401 или плацебо вводили здоровым индивидуумам в следующих дозах (N=RVT-1401:плацебо): 0,5 мг/кг п/к (N=3:0); 1,5 мг/кг п/к (N=6:2); 5,0 мг/кг п/к (N=6:2); 340 мг п/к (N=6:2); 500 мг п/к (N=6:2); 765 мг п/к (N=6:2); 0,1 мг/кг в/в (N=4:0); 100 мг в/в (N=6:2); 340 мг в/в (N=6:2); 765 мг в/в (N=6:2); 1530 мг в/в (N=6:2); 340 мг еженедельно ×4 (N=8:2); и 680 мг еженедельно ×4 (N=8:2) (рис. 9). Демографические данные индивидуумов приведены в таблице 9.

Таблица 9. Демографические данные индивидуумов

Демографические данные	Однократная доза		Многократная доза	
	RVT-1401 (N=61)	Плацебо (N=18)	RVT-1401 (N=16)	Плацебо (N=4)
Средний возраст (лет) [диапазон]	36 (19-55)	36 (18-55)	37 (21-48)	36 (32-40)
Средняя масса (кг) [диапазон]	79 (52-102)	71 (54-94)	76 (59-90)	82 (74-103)
Пол - мужской(N%)	57 (93%)	13 (72%)	16 (100%)	4 (100%)
Пол - женский (N%)	4 (7%)	5 (28%)	0 (0%)	0 (0%)
Раса - белые (N%)	54 (89%)	15 (83%)	14 (88%)	4 (100%)
Раса - черные или	5 (8%)	2 (11%)	1 (6%)	0 (0%)

афроамериканцы (N%)				
Раса - азиаты (N%)	0 (0%)	1 (6%)	1 (6%)	0 (0%)
Раса - другие (N%)	2 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Результаты

[0250] Фармакокинетика (ФК): ФК при однократной дозе (C_{\max} и AUC) после п/к введения увеличивается более чем пропорционально дозе в диапазоне доз от 1,5 мг/кг (эквивалентное среднее значение: 127 мг) до 765 мг (фиксированная доза). Аналогичную тенденцию наблюдали после 1-часовой в/в инфузии в диапазоне доз от 100 мг до 340 мг. Пиковые концентрации наблюдали между 1,5 и 4 днями после п/к введения доз 340 мг и выше. После в/в инфузии конечное время полужизни в сыворотке ($t_{1/2}$) RVT-1401 увеличивалось с увеличением дозы. Дозозависимое время полужизни и более пропорциональное увеличение AUC соответствовало распределению лекарственного средства, опосредованному мишенью. Изменение времени полужизни в зависимости от дозы наблюдали после п/к введения доз выше 340 мг, при этом $t_{1/2}$ колебалось от 10 до 38 часов для всех доз. Биодоступность RVT-1401 при введении подкожно составила 11% и 23,5% после введения 340 мг и 765 мг, соответственно. Средние профили концентрация-время у здоровых людей после введения однократной дозы в/в и п/к RVT-1401 показаны на фиг. 10А и 10В. Краткое изложение ФК параметров плазмы после однократного введения RVT-1401 показано в таблицах 10 и 11.

[0251] RVT-1401 вводили в виде п/к еженедельных инъекций по 340 мг или 680 мг в течение четырех недель в многодозовых когортах. После еженедельного п/к введения 340 мг вариабельность C_{\max} и AUC (0,168) после первой дозы RVT-1401 соответствовала данным однократной дозы. Эта межиндивидуальная вариабельность вокруг C_{\max} и AUC(0-168) уменьшалась после введения последующих доз. Накопление лекарственного средства после еженедельных доз 340 мг также показало большую межиндивидуальную изменчивость, вероятно, из-за изменчивости после первой дозы. Повторное п/к введение 680 мг показало меньшую межиндивидуальную вариабельность экспозиций и имело меньшую кумуляцию через четыре недели дозирования. Экспозиции (C_{\max} и AUC(0-168)) увеличивались более чем пропорционально дозе при сравнении недели 4 в дозах 340 мг и 680 мг п/к. Увеличивающееся время полужизни и более чем пропорциональное увеличение AUC и C_{\max} с увеличением дозы соответствовало мишень-опосредованному распределению лекарственного средства. Средние профили концентрация-время у здоровых лиц после еженедельного п/к введения RVT-1401 в дозе 340 мг или 680 мг показаны на фиг. 11А и 11В.

Таблица 10. Краткий обзор ФК параметров [геометрическое среднее (%CV)] после однократного п/к введения RVT-1401 на основании массы

Доза (мг/кг)	Путь введения	N	Масса (кг)	AUC ₍₀₋₁₆₈₎ ч*мкг/мл	C _{max} (мкг/мл)	T _{max} ¹ (сутки)	Время полужизни (часы)
1,5	п/к	5 ²	84 (71,102)	5,20 (69)	0,08 (170)	0,75 (0,33,2,00)	46,4 (111)
5,0	п/к	6	75 (59,97)	833 (60)	12,8 (54)	2,5(2,3)	12,0 (21,7)

¹медиана (Минимум, максимум)

²у одного индивидуума не было измеримых концентраций после введения 1,5 мг/кг, таким образом, он был исключен из краткого обзора ФК параметров

Таблица 11. Краткий обзор ФК параметров [геометрическое среднее (%CV)] однократного пк или в/в введения фиксированной дозы RVT-1401

Доза (мг)	Путь введения	N	Масса (кг)	AUC ₍₀₋₁₆₈₎ ч*мкг/мл	C _{max} (мкг/мл)	T _{max} ¹ (сутки)	Время полужизни ² (часы)
100	в/в	6	92 (70,101)	211 (51)	19,9 (25)	0,04 (0,04,0,06)	5,30 (23)
340	в/в	6	71 (69,102)	3940 (12)	121 (16)	0,06 (0,04,0,08)	11,2 (29)
765	в/в	6	76 (58,102)	15500 (26)	273 (22)	1,75 (1,5,8)	ND
1530	в/в	6	77 (54,89)	35100 (28)	530 (25)	1,5 (1,6)	ND
340	п/к	6	83 (66,97)	453 (333)	7,58 (275)	1,5 (1,5,3)	14,6 (n=5) (35)
500	п/к	6	74 (70,91)	323 (626)	4,26 (661)	2,5 (1,5,4)	21,6 (n=5) (56)
765	п/к	6	75 (52,98)	4110 (77)	42,5 (57)	3 (2,4)	16,1 (n=5) (14,5)

¹Медиана (Мин, Макс)

²В когортах 340, 500 и 765 мг п/к было по одному индивидууму, у которых конечное время полужизни не могло быть рассчитано из-за недостаточного количества баллов в конечной фазе

ND = Не определено ко времени прекращения сбора данных

[0252] Первичная фармакодинамика (ФД): дозозависимое снижение уровня IgG по сравнению с исходным уровнем наблюдали после однократного введения дозы п/к и в/в RVT-1401. Время наименьшей концентрации IgG составляло от 7 до 14 суток после введения RVT-1401. Восстановление до исходного уровня обычно достигалось в течение 56

суток после приема последней дозы. Наибольший процент снижения IgG после однократного п/к введения составил 48% после введения 765 мг. После повторного введения RVT-1401 наблюдалось кумулятивное снижение уровня IgG и содержания альбумина как в когортах 340 мг, так и в когортах 680 мг. После еженедельного п/к введения 680 мг наименьшее содержание как IgG, так и альбумина произошло до последней дозы у большинства индивидуумов, что указывает на то, что максимальное снижение было достигнуто к неделе 4. Максимальное снижение IgG на 63% наблюдалось после еженедельного п/к введения 340 мг в течение 4 недель и на 78% после еженедельного п/к введения 680 мг в течение 4 недель. Через пять недель после последней дозы среднее (SD) содержание IgG составило 8,6 (2,5) г/л и 9,0 (2,0) г/л для когорт 340 мг и 680 мг, соответственно, в пределах 30% от исходного. Устойчивое снижение уровня IgG (>35%) сохранялось в течение одного месяца после приема последней дозы, при этом не наблюдалось значимых изменений IgM или IgA. Сывороточный профиль IgG концентрация-время у здоровых индивидуумов после еженедельного п/к введения RVT-1401 в дозе 340 мг или 680 мг показан на фиг. 12. Краткое изложение общих ФД параметров IgG после однократного введения дозы RVT-1401 показано в таблице 12. Краткое изложение общих ФД параметров IgG после многократного введения дозы RVT-1401 показано в таблице 13.

Таблица 12. Краткий обзор ФД параметров общего IgG [среднее (SD)] после однократного введения RVT-1401

Доза	Путь	N	Исходный уровень (г/л)	Наименьшая концентрация (г/л)	Максимальное снижение от исходного уровня (%)	Время до наименьшей концентрации ¹ (сутки)
1,5 мг/кг	п/к	6	10,8 (1,2)	9,3 (1,5)	14,0 (5,25)	14 (10,28)
5,0 мг/кг	п/к	6	10,3 (1,8)	7,1 (1,4)	31,3 (5,07)	10 (7,0,10)
340 мг/кг	п/к	6	11,4 (1,6)	8,2 (2,6)	29,0 (18,3)	10,5 (4,21)
500 мг/кг	п/к	6	12,0 (1,8)	7,6 (1,1)	36,3 (9,0)	10 (7,0,14)
765 мг/кг	п/к	6	11,7 (2,1)	6,1 (0,9)	47,8 (5,60)	8,5 (7,0,14)
Плацебо	п/к	10	9,9 (1,3)	9,3 (1,1)	6,07 (4,38)	12 (0,0,84)
100 мг/кг	в/в	6	9,6 (1,1)	8,4 (1,1)	12,8 (4,18)	3,5 (2,0,10)
340 мг/кг	в/в	6	12,3 (2,5)	7,7 (1,8)	37,3 (3,29)	10 (7,0,10)
765 мг/кг	в/в	6	14,4 (1,7)	6,2 (0,9) ²	57,3 (0,87) ²	10 (10,10) ²

1530 мг/кг	в/в	6	11,4 (2,5)	3,8 (1,2)	66,8 (4,48)	10 (10,14)
Плацебо	в/в	8	11,9 (3,0)	10,8 (2,4)	8,97 (6,67)	14 (7,0,84)

¹Время до наименьшей концентрации представлено относительно введения первой дозы; медиана (Мин, Макс)

²N=4

Таблица 13. Краткий обзор ФД параметров общего IgG [среднее (SD)] после многократного введения RVT-1401

Доза (мг)	N	Масса тела ² (кг)	Исходный уровень (г/л)	Наименьш ая концентра ция (г/л)	Максимальн ое снижение от исходного уровня (%)	Время до наименьш ей концентра ции ^{2,3} (сутки)
340	8	80,0 (66,8,84,4)	11,8 (2,7)	4,4 ¹ (2,2)	62,6 ¹ (10,7)	24 ¹ (21,28)
680	8	70,9 (59,2,60,3)	12,6 (2,8)	2,8 (0,9)	78,4 (2,36)	21 (21,24)
Плацебо ⁴	4	76,1 (75,4,107)	10,5 (2,3)	9,3 (1,9)	11,2 (1,70)	33 (21,42)

¹N=7 для ФД, так как один человек выбыл до четвертой и последней дозы по личным причинам

²Медиана (Мин, Макс)

³Время до наименьшей концентрации относительно к введению первой дозы

⁴Группа плацебо состоит из индивидуумов, получавших плацебо из обеих групп лечения.

[0253] Вторичная ФД: дозозависимое снижение уровня альбумина наблюдали после повторного введения дозы RVT-1401 в дозе 340 мг или 680 мг. Никаких нежелательных явлений (НЯ) не было связано с наблюдаемым снижением уровня альбумина. У всех индивидуумов средний сывороточный уровень альбумина оставался в пределах нормы (>3,5 г/дл) после еженедельного приема 340 мг. При дозе 680 мг уровень альбумина упал ниже нормы у всех индивидуумов, но оставался выше 3,0 г/дл в течение всего периода дозирования, за исключением одного индивидуума (альбумин этого индивидуума достиг наименьшей концентрации 2,6 г/дл на сутки 22 и сутки 25), но не привел к каким-либо клиническим признакам, симптомам или нежелательным явлениям). У всех индивидуумов уровни альбумина были в пределах нормы в течение четырех недель после последней дозы для когорты 680 мг. В обеих когортах в среднем индивидуальные уровни альбумина находились в пределах 90% от их исходных значений через пять недель после последней дозы, что указывает на обратимость эффекта RVT-1401 на альбумин.

[0254] На фиг. 13А представлено процентное снижение (%) сывороточного IgG от исходного уровня у здоровых людей после однократного в/в введения RVT-1401 (340 мг, 765 мг, 1530 мг) или плацебо. На фиг. 13В представлено процентное снижение (%) сывороточного IgG от исходного уровня у здоровых людей после однократного п/к введения RVT-1401 (340 мг, 765 мг) или плацебо. На фиг. 14А показано процентное снижение (%) сывороточного IgG (общего) по сравнению с исходным уровнем у здоровых индивидуумов после многократного п/к введения RVT-1401 (340 мг, 680 мг) или плацебо. На фиг. 14В представлено процентное снижение (%) сывороточного IgG1 от исходного уровня у здоровых людей после многократного п/к введения RVT-1401 (340 мг, 680 мг) или плацебо. На фиг. 14С представлено процентное снижение (%) сывороточного IgG2 от исходного уровня у здоровых людей после многократного п/к введения RVT-1401 (340 мг, 680 мг) или плацебо. На фиг. 14D представлено процентное снижение (%) сывороточного IgG3 от исходного уровня у здоровых людей после многократного п/к введения RVT-1401 (340 мг, 680 мг) или плацебо. На фиг. 14Е представлено процентное снижение (%) сывороточного IgG4 от исходного уровня у здоровых людей после многократного п/к введения RVT-1401 (340 мг, 680 мг) или плацебо. Максимальный процент (%) снижения сывороточного IgG от исходного уровня для подклассов IgG (IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4) показан в таблице 14.

Таблица 14. Максимальный процент (%) снижения сывороточного IgG для подклассов IgG

		Максимальный процент (%) снижения от * исходного значения			
Лечение	Доза, нормализованная по массе ** (мг/кг)	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Плацебо	0	6,8 (6,8)	6,9 (0,8)	6,8 (2,2)	12,1 (3,1)
340 мг	4,4 (4,0, 5,1)	67,4 (8,2)	50,7 (9,6)	72 (9,0)	58,1 (6,9)
680 мг	9,2 (7,5, 11,5)	80,4 (2,9)	70,6 (3,7)	85,3 (2,3)	78,7 (5,6)

*Среднее(SD); **Среднее (Мин, Max).

[0255] Безопасность: RVT-1401 в целом хорошо переносился, без летальных исходов или отказов от лечения из-за нежелательных явлений (НЯ), а также всех несерьезных

нежелательных явлений, возникающих при лечении (НЯВЛ) легкой или средней степени тяжести. Инъекционные реакции (эритема и/или отек) были наиболее частыми НЯВЛ как для RVT-1401, так и для плацебо после п/к введения (однократная и многократная доза). Инъекционные реакции были слабо выраженными и обычно разрешались в течение 1–4 часов после приема препарата. Частота инъекционных реакций не зависела от дозы и была одинаковой для RVT-1401 и плацебо. Другие НЯВЛ, наблюдаемые у трех или более человек, получавших однократную или многократную дозу ≥ 340 мг/кг п/к, включали головную боль и бессонницу. Боль в ротоглотке и головная боль были единственными нежелательными явлениями, о которых сообщалось у трех или более человек после в/в введения. Все несерьезные НЯВЛ в когортах в/в доз были от легкой до умеренной степени тяжести. В целом, после п/к или в/в введения RVT-1401 значимых изменений по сравнению с исходным уровнем показателей жизнедеятельности, лабораторных анализов (включая тесты функции печени) или ЭКГ не наблюдали. Не было никаких клинических признаков или симптомов со снижением уровня IgG или альбумина ни в когортах п/к, ни в/в. Головных болей после повторных п/к инъекций RVT-1401 в дозе 680 мг не наблюдали. Сообщалось о двух серьезных НЯ, ни одно из которых не было связано с RVT-1401.

[0256] Иммуногенность: Появление антитела к лекарственному средству (ADA) к RVT-1401 во всех когортах доз после однократного (в/в и п/к составы) и многократного (п/к состав) введения RVT-1401. Предварительные данные показали, что частота возникновения ADA, возникшего после лечения, составила 10,3% у лиц, получавших RVT-1401, и 6,7% у лиц, получавших плацебо, в когортах с однократной восходящей дозой, что согласуется с высокой чувствительностью анализа. Титры считались низкими ($\leq 1:16$) и не влияли на ФК или ФД. Все ADA разрешились к концу периода мониторинга. Не было выявлено во время лечения ADA в когортах с множественной возрастающей дозой (MAD) ни с 340 мг, ни с 680 мг.

Пример 10: Нерандомизированное открытое исследование RVT-1401 для лечения пациентов с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией (т-АИГА).

[0257] Для оценки безопасности, переносимости, ФК, ФД и эффективности RVT-1401 (680 мг еженедельно и 340 мг еженедельно) у пациентов с тепловой аутоиммунной гемолитической анемией (т-АИГА), оценивают два режима дозирования RVT-1401 в нерандомизированном, последовательном, открытом исследовании. Оба режима дозирования включают подкожные инъекции (п/к) один раз в неделю: режим дозирования А (680 мг еженедельно в течение 12 недель) и режим дозирования В (340 мг еженедельно в течение 12 недель). Режим дозирования А (680 мг еженедельно) вводят в виде двух п/к инъекций в неделю, а режим дозирования В (340 мг еженедельно) вводят в виде

однократной п/к инъекции в неделю. Дизайн исследования показан на фиг. 15 и изложен ниже.

Дизайн исследования:

Скрининг

[0258] Пациентам ставят диагноз, и они проходят скрининг на основные критерии включения/ исключения (таблица 15). Дополнительные примеры критериев включения/ исключения описаны в NCT03226678, NCT04119050 и NCT03764618 (ClinicalTrials.gov), каждый из которых включен в настоящий документ посредством ссылки для раскрытия таких критериев.

Таблица 15. Основные критерии включение/исключения

Критерии - Включение	
1	Мужчина или женщина в возрасте ≥ 18 лет
2	Дигноз первичной или вторичной т-АИГА, задокументированный положительным прямым антиглобулиновым тестом (DAT), специфичным для анти-IgG по отдельности или анти-IgG плюс C3d
3	Вторичная т-АИГА может включать только стадию 0 хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), при которой отдельное лечение не показано и не предполагается, что она потребует активного лечения на время исследования
4	Безрезультатность или непереносимость, по меньшей мере, одной предшествующей схемы лечения т-АИГА в соответствии с местными стандартами (например, стероиды, ритуксимаб, азатиоприн, циклофосфамид, циклоспорин, микофенолат мофетил (MMF), даназол или винкристин)
5	Допускаются индивидуумы со спленэктомией ≥ 3 месяцев от суток 1, прошедшие вакцинацию (на основании возраста и местных рекомендаций)
6	Гаптоглобин < нижней границы нормы (НГН) и лактатдегидрогеназа (ЛДГ) > верхней границы нормы (ВГН)
7	При скрининге и исходном уровне уровень гемоглобина индивидуума должен быть <10 г/дл, а индивидуум должен иметь задокументированные симптомы, связанные с анемией (например, слабость, головокружение, утомляемость, одышка, боль в груди)
8	Оценка общего состояния пациента по шкале Карновского ≥ 60

9	Параллельное лечение субъекта от т-АИГА может состоять только из стероидов (стабильная доза в течение, по меньшей мере, двух недель до суток 1), иммунодепрессанты (азатиоприн, ММФ или циклоспорин), которые применяли в стабильной дозе в течение, по меньшей мере, четырех недель до суток 1, или эритропозтин (стабильная доза в течение, по меньшей мере, шести недель до суток 1). [Примечание: начальные дозы терапии т-АИГА должны поддерживаться на протяжении всего исследования, за исключением случаев неотложной терапии в соответствии с местными стандартами безопасности. Снижение дозы стероидов до 10 мг/день будет разрешено для индивидуумов, достигших ответа в течение, по меньшей мере, двух недель]
	Критерии - Исключение
1	Индивидуумы с другими типами АИГА (например, АИГА с холодowymi антителами, синдром холодowych агглютининов, смешанный тип АИГА или пароксизмальная холодовая гемоглобинурия)
2	Индивидуумы, которым требуется более двух единиц эритроцитов в неделю в течение двух недель до скрининга и определения базового уровня
3	Использование ритуксимаба, любого моноклонального антитела для иммуномодуляции или ингибитора протеасомы в течение последних трех месяцев до скрининга
4	Иммуноглобулины, вводимые п/к, в/в (ВВИГ) или внутримышечно, или плазмаферез/обмен плазмы (ПФ) в течение 60 суток до скрининга
5	Уровень общего IgG <6 г/л (при скрининге)
6	Абсолютное число нейтрофилов <1000 клеток/мм ³ (при скрининге)
7	Уровень альбумина <3,5 г/дл при скрининге
8	Известное прогрессирующее заболевание печени, включая любой диагноз цирроза печени любой стадии. Заболевание неалкогольным ожирением печени (НАЖБП), в том числе неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ), допустимо, если недавно (в течение 6 месяцев) были нормальные данные УЗИ, КТ или МРТ. Если УЗИ, КТ или МРТ демонстрируют только жировые изменения, индивидуум может быть зачислен, если у него/нее есть фибросканирование для фиброза печени нормального диапазона
9	АСТ или АЛТ $\geq 1,5 \times$ ВГН при скрининге. Индивидуум может быть зачислен только при наличии недавних (в течение шести месяцев) нормальных результатов УЗИ, КТ или МРТ. Если УЗИ, КТ или МРТ демонстрируют только жировые изменения,

	индивидуум может быть зачислен, если у него/нее есть фибросканирование для фиброза печени нормального диапазона
10	Индивидуум имеет какие-либо лабораторные аномалии (при скрининге), которые являются значимыми, не разрешились на исходном уровне и могут поставить под угрозу или нарушить способность индивидуума участвовать в исследовании.
11	История болезни (анамнез) первичного иммунодефицита, Т-клеточного или гуморального, в том числе общего вариабельного иммунодефицита.
12	Наличие активной инфекции, недавней тяжелой инфекции (т.е., требующей инъекционной противомикробной терапии или госпитализации) в течение восьми недель до скрининга
13	В анамнезе известная инфекция вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусом гепатита В (HBV), или <i>Mycobacterium tuberculosis</i> : <ul style="list-style-type: none"> - Индивидуумы должны иметь отрицательные результаты теста на вирусный антиген ВИЧ, антитело к коровому белку ВИЧ, антитела к ВИЧ 1 и 2, и отрицательный тест QuantiFERON-TB Gold при скрининге. - Индивидуумам с неопределенным результатом теста QuantiFERON-TB Gold будет разрешен один повторный тест; если повторное тестирование не будет отрицательным, индивидуум будет исключен
14	Инфекция вирусом гепатита С (ВГС): <ul style="list-style-type: none"> - Индивидуумы должны иметь отрицательный результат теста на антитело к ВГС. - Индивидуумы с известным анамнезом ВГС должны иметь документально подтвержденный устойчивый вирусологический ответ, соответствующий излечению от инфекции гепатитом С. Это определяют как неопределяемую или не поддающуюся количественной оценке РНК ВГС, по меньшей мере, через двенадцать недель после прекращения лечения ВГС (HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C; 2014-2018, AASLD and IDSA). Это должно быть подтверждено отрицательным тестом на РНК ВГС при скрининге
15	Активное злокачественное новообразование или злокачественное новообразование в анамнезе за три года до скрининга (исключая немеланомный рак кожи и рак шейки матки <i>in situ</i>)
16	Индивидуум имеет какое-либо медицинское состояние (острое или хроническое заболевание) или психическое заболевание, которое может поставить под угрозу

	или нарушить способность индивидуума участвовать в исследовании
17	Индекс массы тела (ИМТ) при скрининге $>40 \text{ кг/м}^2$
18	Использование исследуемого лекарственного средства в течение 60 суток или пяти периодов полураспада лекарственного средства (в зависимости от того, что длиннее) до скрининга
19	Индивидуум получил живую вакцину в течение двух недель до исходного визита; или намеревается получить живую вакцину в ходе исследования или в течение семи недель после последней дозы исследуемого препарата
20	История чувствительности к любому из исследуемых препаратов или их компонентов или история анафилаксии (т.е., серьезная, опасная для жизни аллергическая реакция), которая является противопоказанием для участия
21	Беременные или кормящие женщины по положительному тесту на человеческий хорионический гонадотропин в сыворотке или в моче при скрининге или исходном уровне
22	Интервал QTcF >450 мс для мужчин и >470 мс для женщин при скрининге (для определения приемлемости допускается один повтор). QTcF >480 мс у отдельных лиц с блокадой ножки пучка Гиса
23	Диагноз сопутствующей идиопатической тромбоцитопении пурпуры (ИТП)/синдрома Эванса с числом тромбоцитов <100000

Лечение

[0259] Две когорты пациентов включены в нерандомизированный последовательный подход. Пациентов сначала включают в когорту 1 (680 мг еженедельно), за которой следует когорта 2 (340 мг еженедельно). После введения начальной дозы на базовом визите (неделя 1, сутки 1) визиты для исследования проводятся еженедельно на протяжении всего периода лечения. Пациенты получают РВТ-1401 в течение 12 недель (680 мг еженедельно или 340 мг еженедельно). Ожидается, что режимы дозирования обеспечат устойчивое снижение общего IgG приблизительно на 75-80% и 65-70% для схемы лечения А и схемы лечения В, соответственно. Также ожидается, что минимальное снижение уровня IgG будет достигнуто с третьей по пятую дозу (в зависимости от исследуемой дозы) и сохранится после введения оставшихся доз, прежде чем вернуться к исходному уровню в течение следующих 6-8 недель после прекращения лечения.

[0260] После получения последней дозы на неделе 12 визиты происходят еженедельно до недели 14, а затем на неделе 16 и неделя 20. Оценки безопасности, ФК, ФД и клинические оценки собирают на протяжении всего исследования. Каждый пациент

участвует в исследовании приблизительно до 24 недель: в периоде скрининга до четырех недель, периоде лечения в 12 недель и в периоде наблюдения в 8 недель. Во время и после лечения первичные, вторичные и исследовательские конечные точки оценивают до недели 20 (таблица 16).

Таблица 16. Первичные, вторичные и поисковые конечные точки

Первичные	
1	Доля ответивших к неделе 13 (определены по уровню Hb ≥ 10 г/дл, по меньшей мере, с увеличением ≥ 2 г/дл от исходного уровня без неотложной терапии или переливания крови в предыдущие две недели)
2	Оценка безопасности и переносимости путем анализа данных о побочных явлениях (AE) и изменения от исходного уровня в жизненно важных показателях, ЭКГ и клинико-лабораторных показателях
Вторичные	
1	Изменение уровней Hb от исходного
2	Время до ответа
3	Изменение уровней гематокрита от исходного
4	Доля пациентов с уровнями Hb в нормальном диапазоне на неделе 13
5	Время достижения уровней Hb в нормальном диапазоне
6	Изменение оценки FACIT-F (усталость) от исходной
7	Изменения от исходного по шкале одышки Совета медицинских исследований (MRC) (диспноэ)
8	Изменение оценки EQ-5D-3L (связанное со здоровьем качество жизни) от исходного
9	Изменение уровней общего IgG и подклассов IgG (I-IV) от исходного
10	Концентрация RVT-1401 перед приемом препарата (C trough)
11	Изменение ЛДГ, билирубина и гаптоглобина от исходного уровня
12	Иммуногенность, определенная путем изменения от пре-дозы у антител к RVT-1401, и характеристика любого из антител к RVT-1401 для подтверждена потенциала к нейтрализации
Поисковые	
1	Статус прямого антиглобулинового теста (DAT) по ответу
2	Доля индивидуумов, которым потребовалась (например, преднизон, дексаметазон и/или переливание крови)
3	Изменение фенотипа В-клеток от исходного
4	Изменение от исходного уровня антител к D, Band 3 и/или гликофору

Оценки исследования и процедуры:

[0261] Медицинские осмотры: Полный медицинский осмотр включает, как минимум, оценку сердечно-сосудистой, дыхательной, желудочно-кишечной и неврологической систем и кожи. Рост также измеряют и записывают только при скрининге, а массу только при скрининге и базовой оценке. Краткий медицинский осмотр включает, как минимум,

оценку состояния кожи, дыхательной и сердечно-сосудистой систем, а также органов брюшной полости (печень и селезенка).

[0262] Показатели жизнедеятельности: показатели жизнедеятельности измеряют в положении лежа и включают температуру, систолическое и диастолическое артериальное давление, а также пульсоксиметрию.

[0263] Электрокардиограммы: Электрокардиограммы (ЭКГ) измеряют в положении лежа. Во время исследования получают ЭКГ в двенадцати отведениях с помощью аппарата ЭКГ, который автоматически рассчитывает частоту сердечных сокращений и измеряет интервалы PR, QRS, QT и QTcF.

[0264] Лабораторные оценки клинической безопасности: гематология, клиническая химия, анализ мочи и дополнительные параметры, подлежащие проверке центральной лабораторией, перечислены ниже в таблице 17.

Таблица 17. Лабораторные оценки клинической безопасности

Гематология			
Число тромбоцитов	Показатели ККК		
Число эритроцитов (ККК)	Средний эритроцитарный объем (MCV)		Нейтрофилы
Число лейкоцитов (БКК), абсолютное	Средний эритроцитарный гемоглобин (МСН)		Лимфоциты
Число ретикулоцитов	Средняя эритроцитарная концентрация гемоглобина (МСНС)		Моноциты
Гемоглобин			Эозинофилы
Гематокрит			Базофилы
Гаптоглобин			
Клиническая химия			
Азот мочевины в крови (BUN)	Калий	АСТ (СГОТ))	Общий (ОБ) и прямой билирубин
Креатинин	Хлорид	АЛТ (СГПТ)	Мочевая кислота
Общий белок	Общий диоксид углерода (СО ₂)	Гаммаглутамил трансфераза (ГГТ)	Альбумин
Натрий	Кальций (корректированный)	Щелочная фосфатаза (ЩФ)	Лактат дегидрогеназа (ЛДГ)
Сывороточный комплемент (СН50, С3)	Иммуноглобулин М (IgM)	Иммуноглобулин А (IgA)	Иммуноглобулин G (IgG)
НbA1c			
Анализ натошак			
Глюкоза (натошак) Только неделя 1 и неделя 13		Инсулин (натошак) Только неделя 1 и неделя 13	
Панель липидов (натошак) Только неделя 1, неделя 13, заключительный визит последующего наблюдения/досрочное прекращение		Общий холестерин Триглицериды ЛВП холестерин ЛНП холестерин (рассчитан при помощи	

	уравнения Мартина-Хопкинса) Соотношение холестерина/ЛВП Не-ЛВП холестерин (рассчитанный) СРБ/Высокочувствительный СРБ
Обычный анализ мочи	
Удельный вес, рН	
Глюкоза, белок, кровь, кетоны при помощи тест-полосок	
Микроскопическое исследование (при аномальной крови или белке)	
Соотношение микроальбумин/креатинин на исходном уровне, неделе 13, неделе 20 (при аномальном белке в моче)	
Другие анализы	
QuantiFERON®-TB Gold	
Серологический анализ на вирусы (ВИЧ1/ВИЧ2, гепатит В (HbsAg), гепатит В (антитело к коровому белку), гепатит С (антитело к Нер С))	
Титр вакцин к столбняку, дифтерии, гепатиту А, гепатиту В, пневмококку	
ФСГ (если необходимо для подтверждения постменопаузы)	
Тесты на беременность: анализ сыворотки при скрининге, неделя 20 и досрочное прекращение, и тет-полоска для мочи перед введением препарата. Положительные тесты мочи должны быть подтверждены тестами сыворотки.	

[0265] Фармакокинетика (ФК): Образцы крови для ФК анализа RVT-1401 собирали в определенные моменты времени. Фиксировали фактическую дату и время сбора каждого образца крови.

[0266] Антитело к лекарственному средству (ADA) и нейтрализующее антитело (NAb): Образцы крови для анализа ADA и NAb собирали в определенные моменты времени. Фиксировали фактическую дату и время сбора каждого образца крови. Пациентов с положительными результатами во время лечения (изменение от исходного уровня) для антитела к RVT-1401 на неделе 20 просят вернуться приблизительно через 6, 9 и 12 месяцев после введения дозы для дополнительных образцов или пока их результат больше не будет положительным. Однако в целях контроля безопасности и блокировки базы данных участие заканчивается при посещении на неделе 20.

[0267] Фармакодинамика (ФД): Образцы крови для анализа ФД RVT-1401 собирали в определенные моменты времени. Фиксировали фактическую дату и время сбора каждого образца крови. Фармакодинамические маркеры включают общий IgG и дифференцировку по классам (т.е., подклассы IgG (IgG1, IgG2, IgG3, и IgG4)).

[0268] Исследовательские биомаркеры: Образцы крови для исследовательского анализа биомаркеров собирали в определенные моменты времени. Фиксировали фактическую дату и время сбора каждого образца крови. Время сбора образцов можно изменять и/или образцы можно получать в дополнительные моменты времени, чтобы обеспечить тщательную оценку биомаркеров. Исследовательские биомаркеры включают фенотип В-клеток, DAT, антитела к D, антитела к Band 3 и/или антитела к гликофоруину.

Промежуточные оценки:

[0269] Промежуточные лабораторные оценки клинической безопасности (гемоглобин и иммуноглобулин G (IgG)) от двух пациентов т-АИГА, получавших RVT-1401 в дозе 680 мг еженедельно (режим дозирования А), приведены в таблице 18.

Таблица 18. Промежуточные лабораторные оценки клинической безопасности – гемоглобин и IgG

	Исходный уровень/Неделя 1	Неделя 2	Неделя 3	Неделя 4	Неделя 5	Неделя 7	Неделя 9	Неделя 11	Неделя 13
Пациент 1									
Гемоглобин (г/дл)	9,5	11,6	11,4	11,7	12,3	10,8	10,4	9,8	9,5
IgG (г/л)	8,2	4,35	2,95	2,07	2,02	1,88	2,12	2,46	
Пациент 2									
Гемоглобин (г/дл)	6,4	7,1	7,1	7,4	7,8	7,7			
IgG (г/л)	12,7	7,5	4,4	3,7	3,4	N/A			

[0270] Оба пациента имеют в анамнезе прогрессирующую т-АИГА и, по меньшей мере, 4 предшествующих неэффективных терапии т-АИГА. На момент начала открытого лечения RVT-1401 оба пациента соответствовали всем критериям приемлемости протокола (таблица 15).

[0271] На момент проведения промежуточных оценок пациент 1 прошел 12 недель лечения, а пациент 2 — 7 недель лечения. Ни у одного из пациентов не было зарегистрировано реакций в месте инъекции.

[0272] Основываясь на сильном и быстром улучшении гемоглобина у пациента 1 (т.е. повышение более чем на 2 г/дл, которое наблюдали на неделе 2, и которое сохранялось в течение четырех недель (недели со 2 по 5)), доза преднизона и доза второй основной терапии т-АИГА для этого пациента были снижены на неделе 5. Вне связи с теорией, эти изменения доз базовых препаратов могут быть связаны со снижением уровня гемоглобина, наблюдаемым у пациента 1, начиная с недели 7 и в следующие недели (таблица 18).

[0273] Хотя настоящее раскрытие было подробно описано со ссылкой на конкретные признаки, очевидно, что это описание предназначено только для иллюстративных целей и не ограничивает объем настоящего раскрытия. Таким образом, объем настоящего раскрытия по существу будет определяться прилагаемой формулой изобретения и ее эквивалентами.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения или профилактики тепловой аутоиммунной гемолитической анемии у нуждающегося в этом пациента, предусматривающий введение пациенту: (i) терапевтически эффективного количества антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента; или (ii) фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель и терапевтически эффективное количество антитела к FcRn или его антигенсвязывающего фрагмента, причем:

антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 27 (HCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 28 (HCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 29 (HCDR3); и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 30 (LCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 31 (LCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 32 (LCDR3); или

антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 21 (HCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 22 (HCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 23 (HCDR3); и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 24 (LCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 25 (LCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 26 (LCDR3); и

терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет приблизительно от 170 мг до приблизительно 1500 мг.

2. Способ по п. 1, в котором антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 27 (HCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 28 (HCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 29 (HCDR3); и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 30 (LCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 31 (LCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 32 (LCDR3).

3. Способ по п. 1, в котором антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 21 (HCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 22 (HCDR2) и

аминокислотную последовательность SEQ ID No: 23 (HCDR3); и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 24 (LCDR1), аминокислотную последовательность SEQ ID No: 25 (LCDR2) и аминокислотную последовательность SEQ ID No: 26 (LCDR3).

4. Способ по п. 1, в котором антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 4 или SEQ ID No: 6, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 или SEQ ID No: 16.

5. Способ по п. 1, в котором антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 2, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID No: 12.

6. Способ по п. 1, в котором антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с FcRn с K_D (константой диссоциации) от 0,01 нМ до 2 нМ при pH 6,0 или pH 7,4.

7. Способ по п. 6, в котором K_D измеряют путем поверхностного плазмонного резонанса (ППР).

8. Способ по п. 1, в котором антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят подкожно.

9. Способ по п. 1, в котором антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят в виде одной или нескольких подкожных инъекций.

10. Способ по п. 9, в котором антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят без внутривенного введения перед одной или несколькими подкожными инъекциями.

11. Способ по п. 1, в котором антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят один раз в виде однократной дозы или один раз в неделю.

12. Способ по п. 1, в котором терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет от 170 мг до 300 мг.

13. Способ по п. 1, в котором терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет от 300 мг до 500 мг.

14. Способ по п. 1, в котором терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет от 500 мг до 700 мг.

15. Способ по п. 1, в котором терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет от 700 мг до 900 мг.

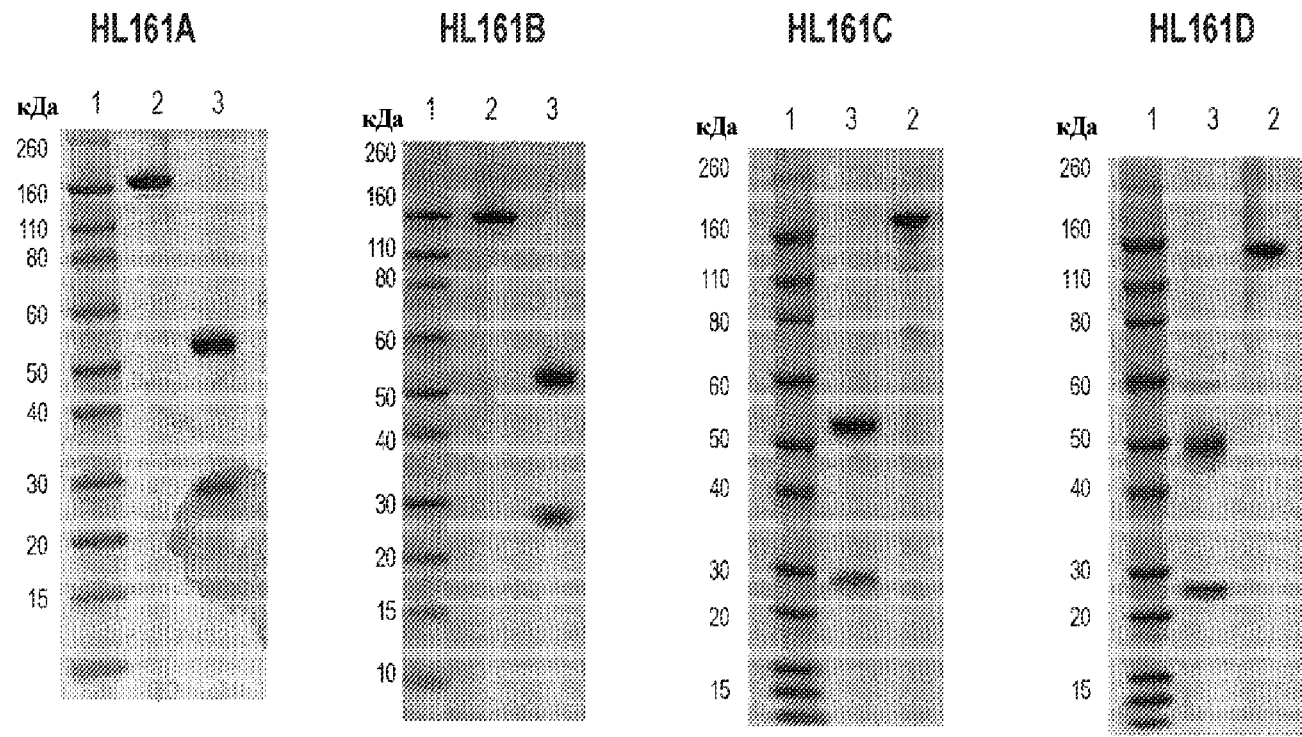
16. Способ по п. 1, в котором терапевтически эффективное количество антитела или

антигенсвязывающего фрагмента составляет от 900 мг до 1100 мг.

17. Способ по п. 1, в котором терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет от 1100 мг до 1300 мг.

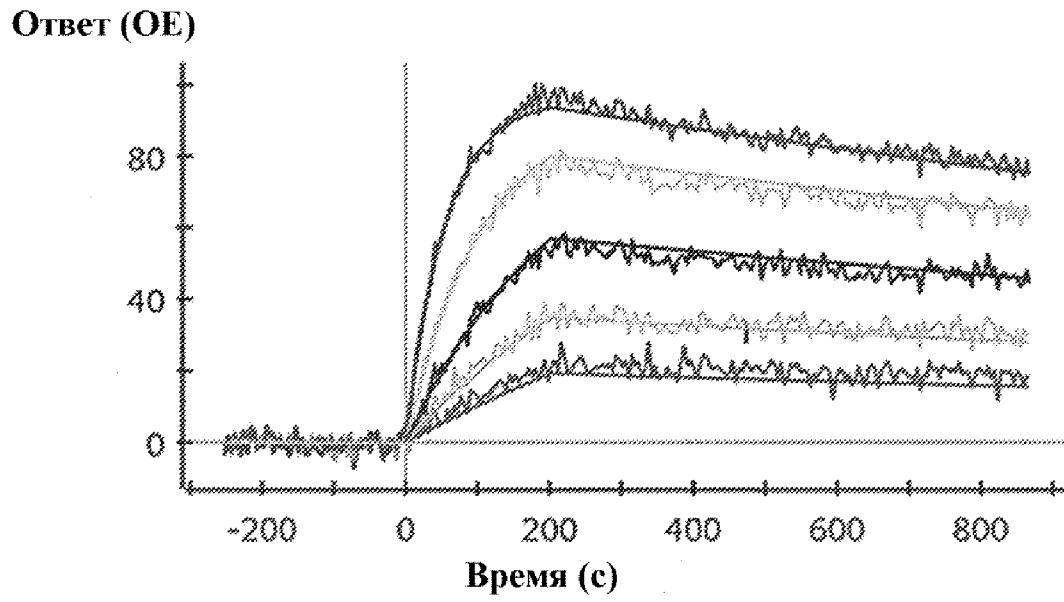
18. Способ по п. 1, в котором терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет от 1300 мг до 1500 мг.

19. Способ по п. 1, в котором антитело, антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическую композицию вводят в комбинации, по меньшей мере, с одним дополнительным терапевтическим средством.

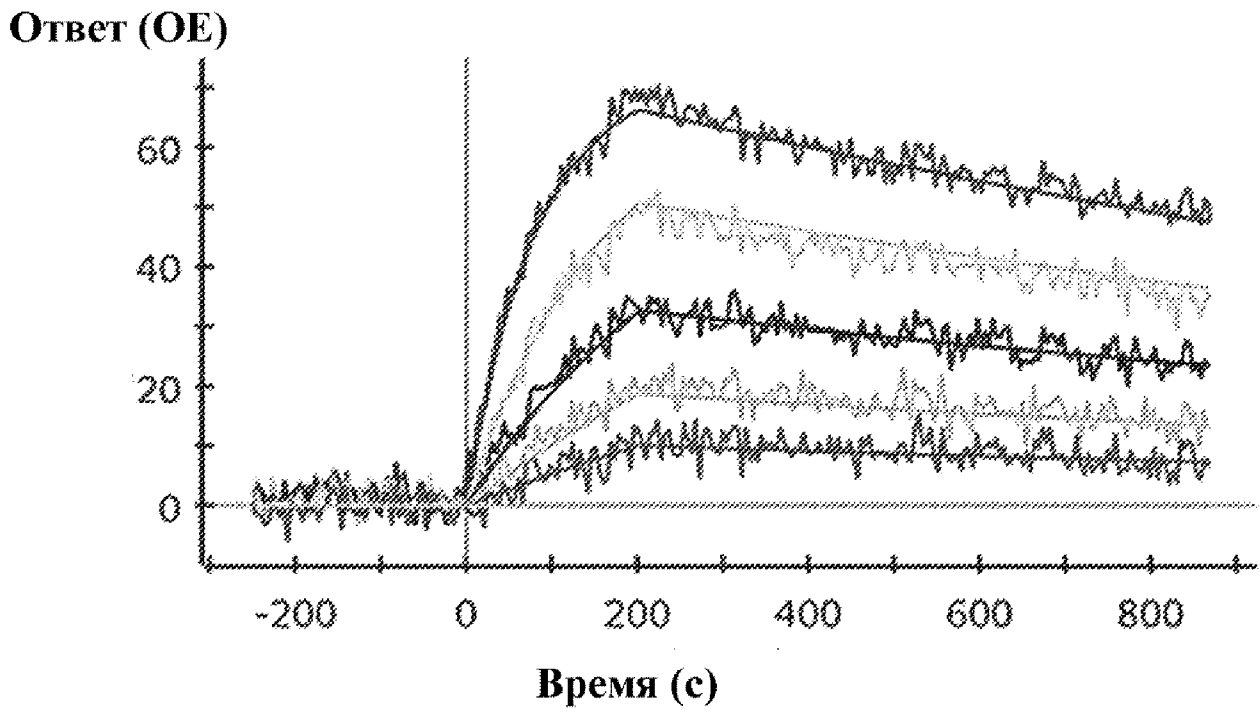


Фиг. 1

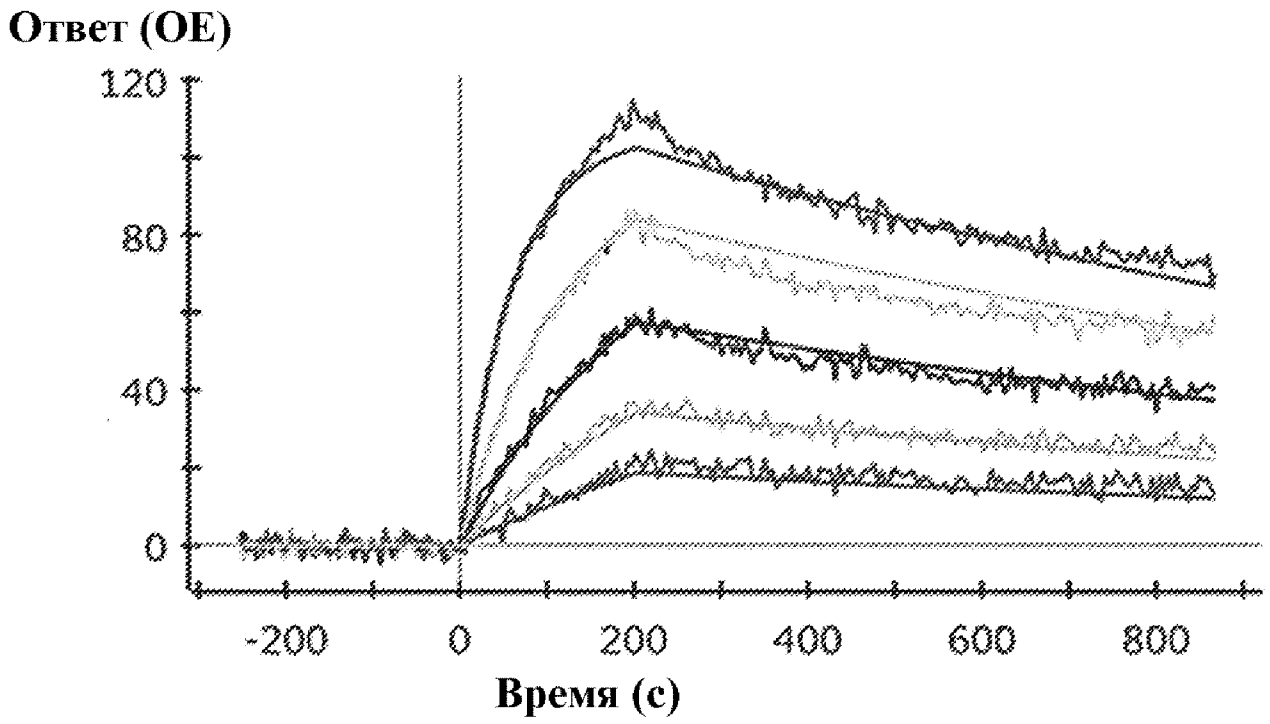
Фиг. 2А



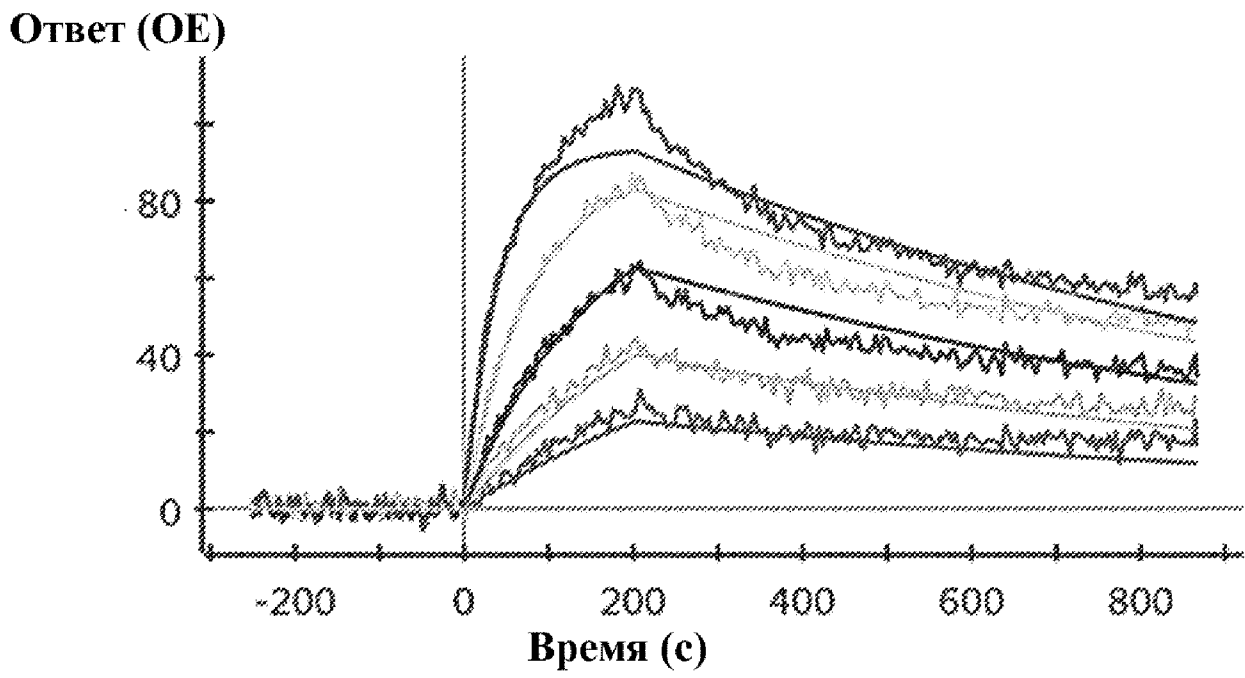
Фиг. 2В



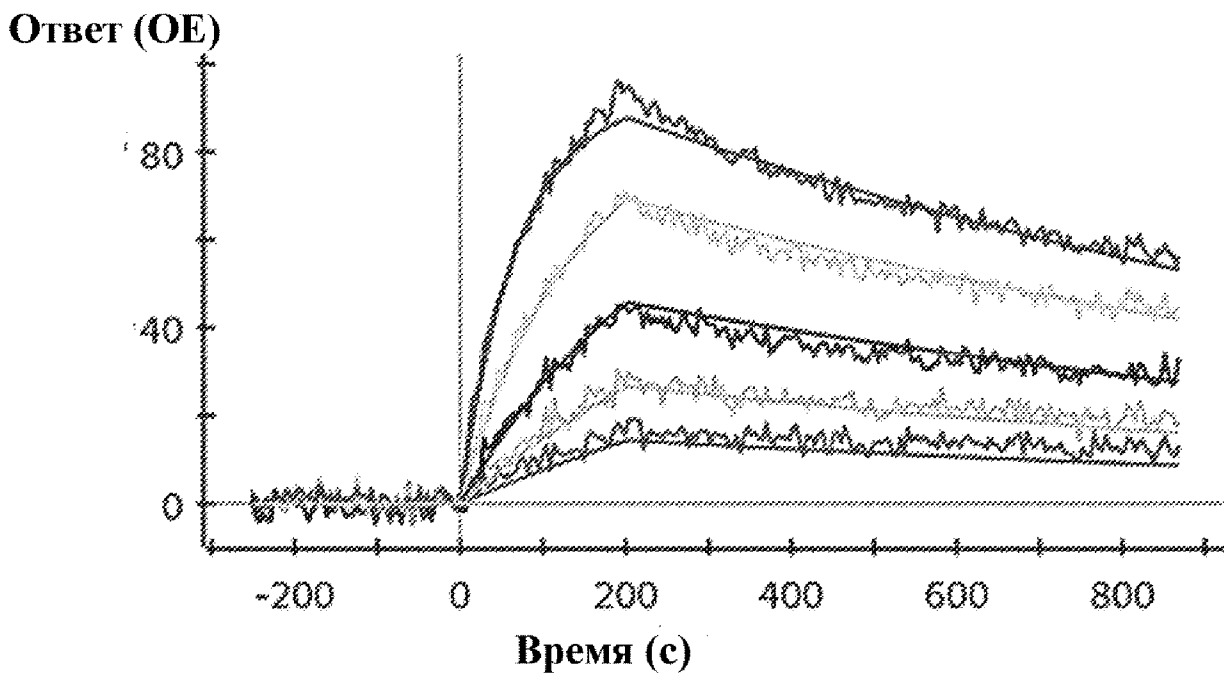
Фиг. 2С



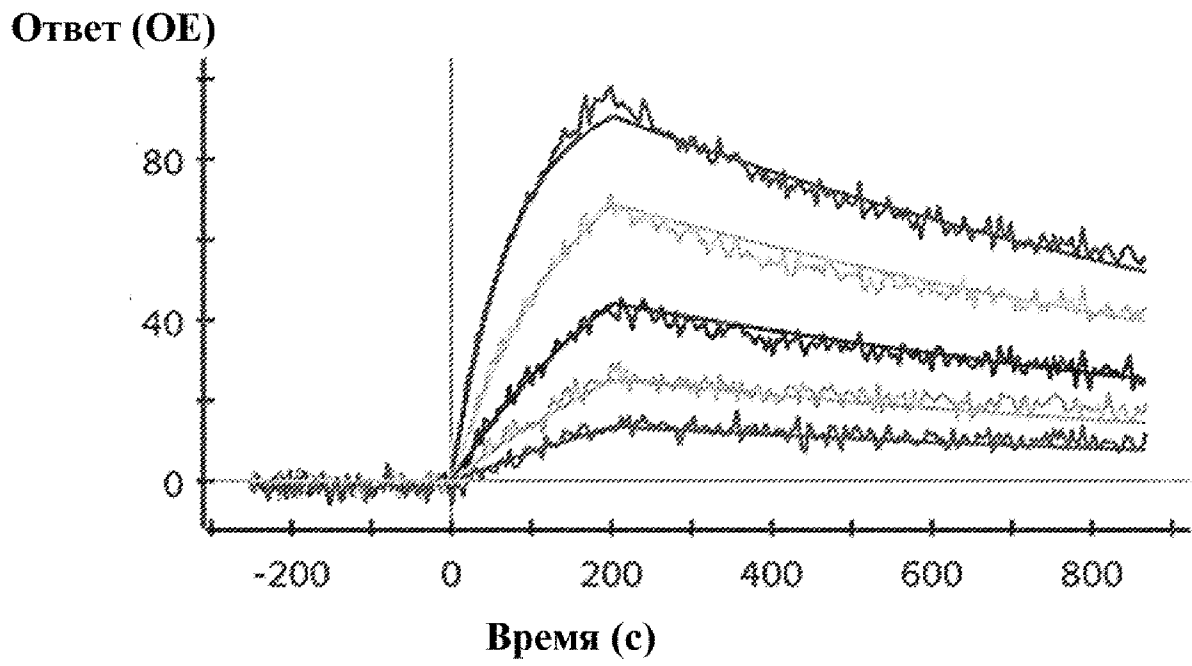
Фиг. 2D



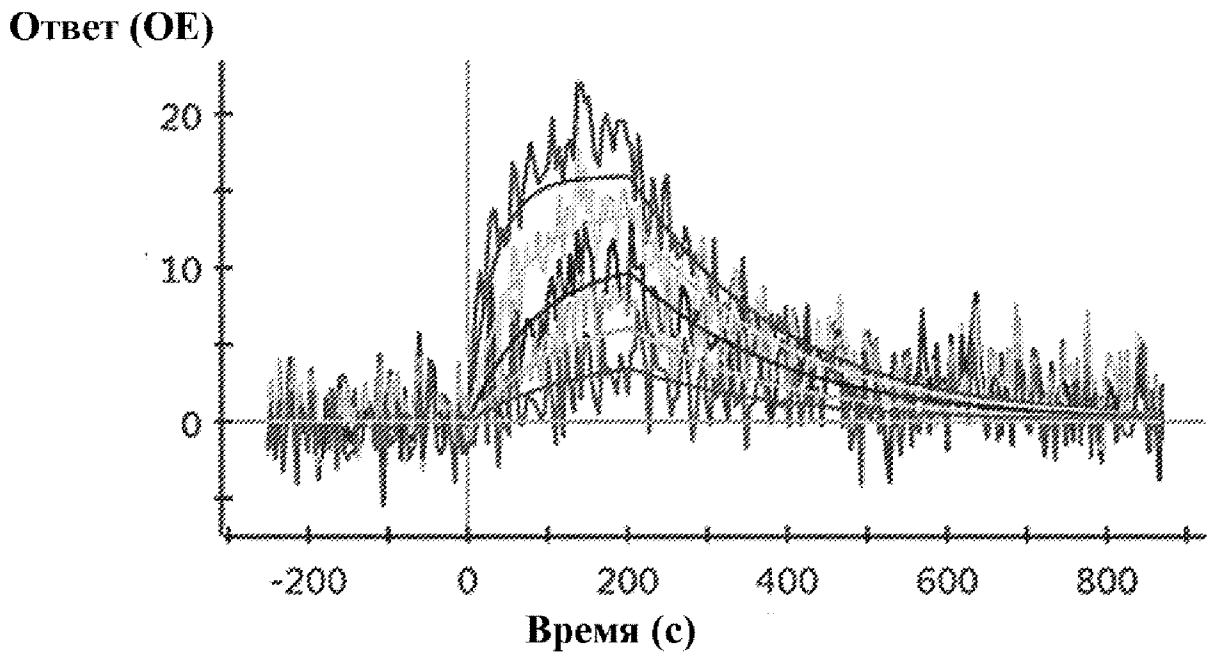
Фиг. 2Е



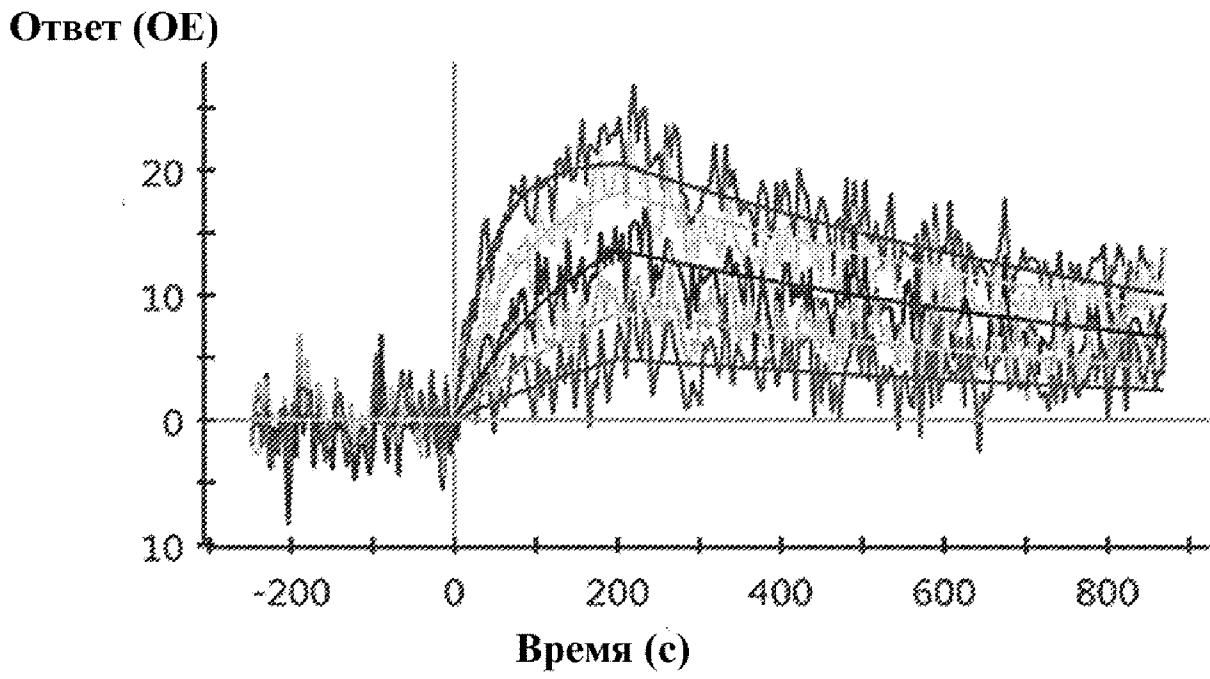
Фиг. 2F



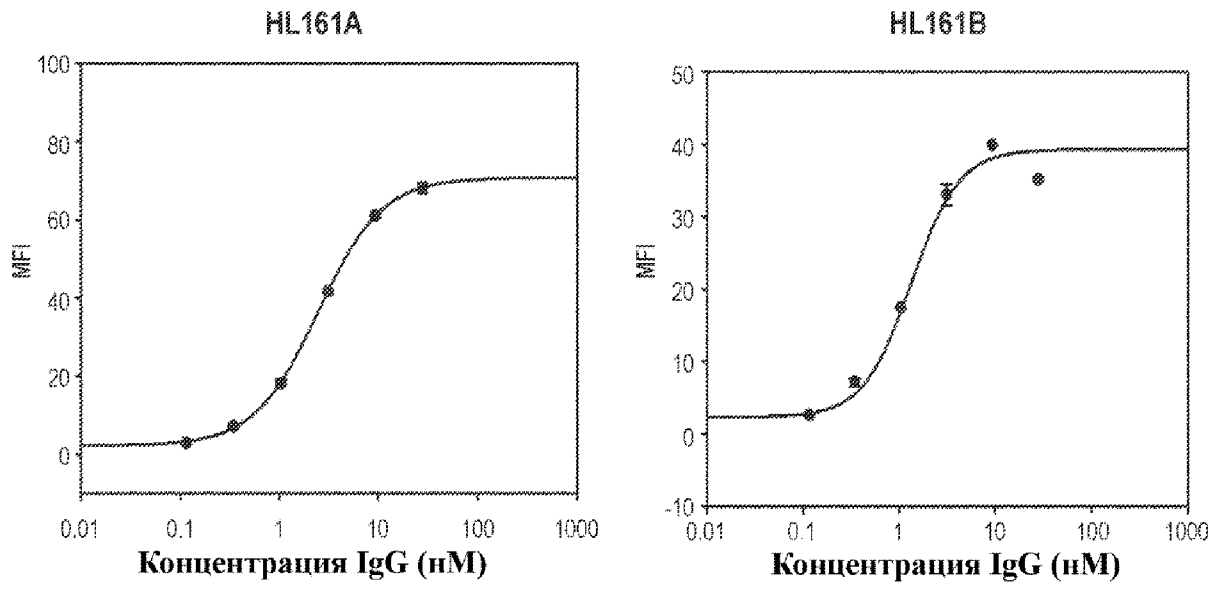
Фиг. 2G



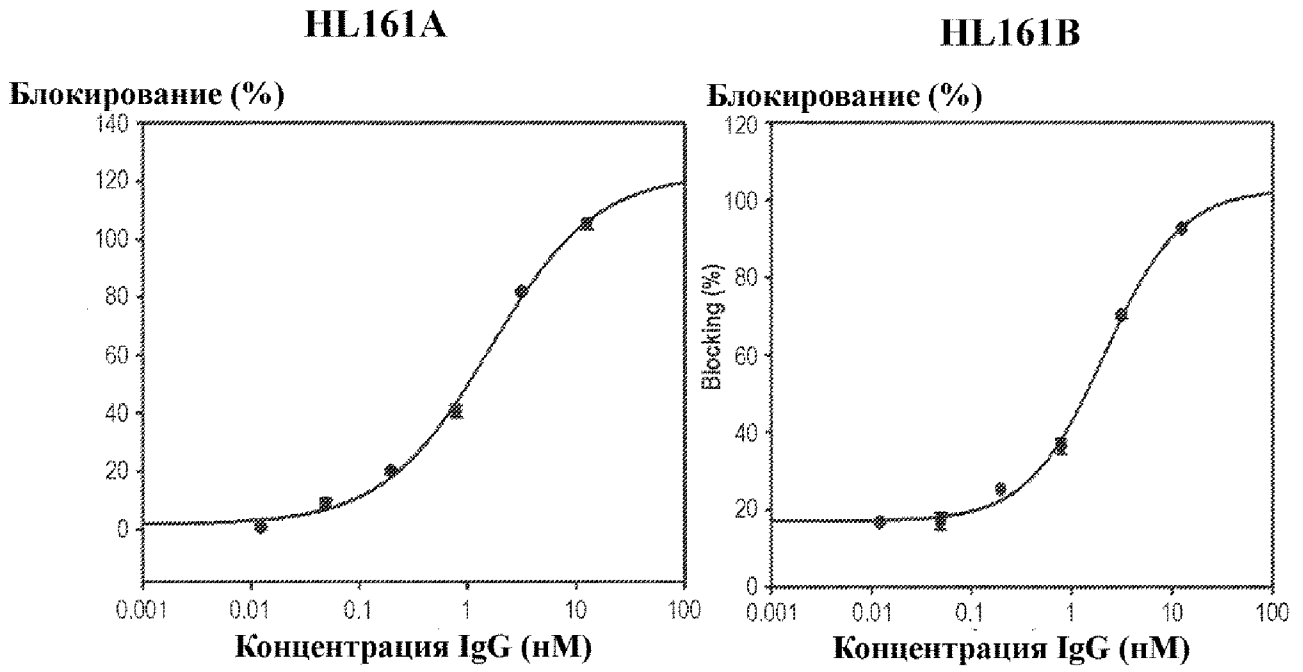
Фиг. 2Н



Фиг. 3



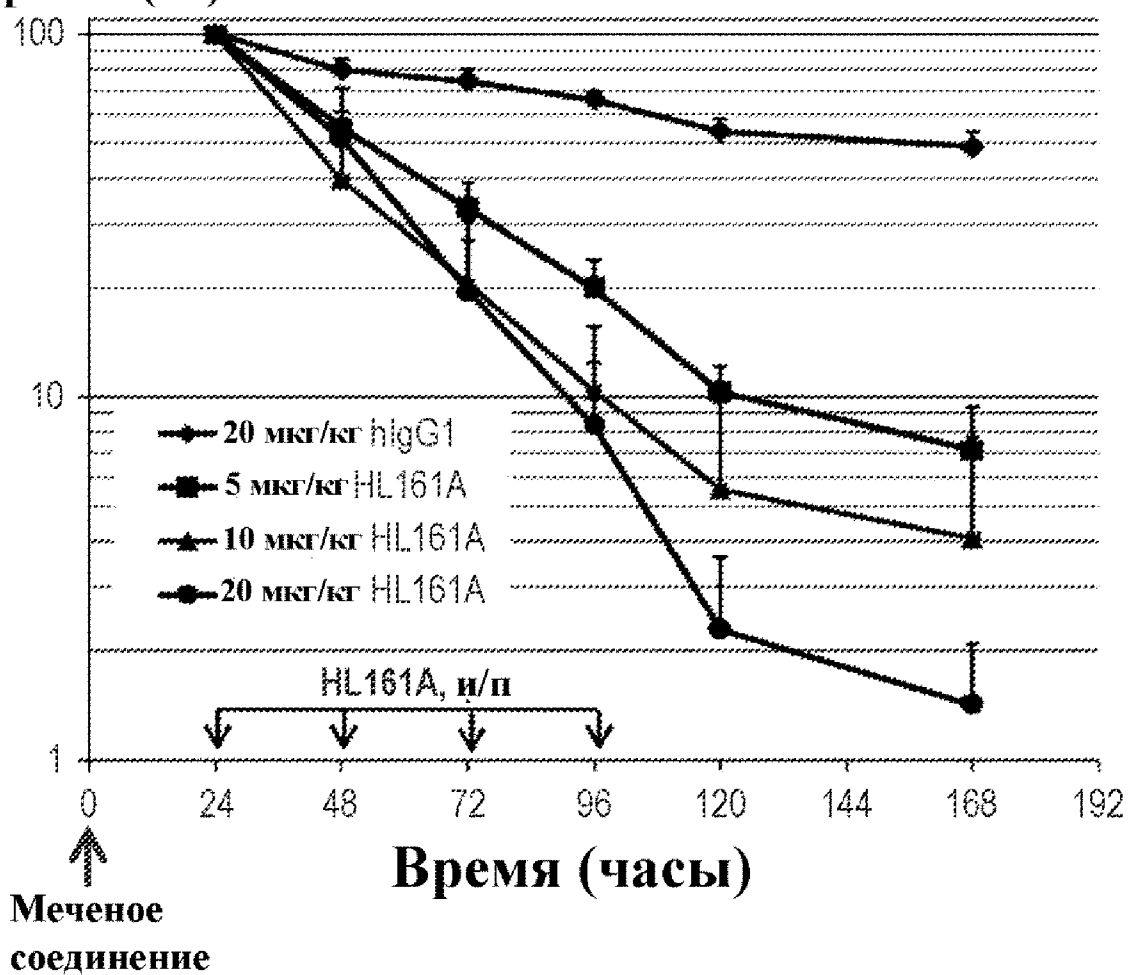
Фиг. 4



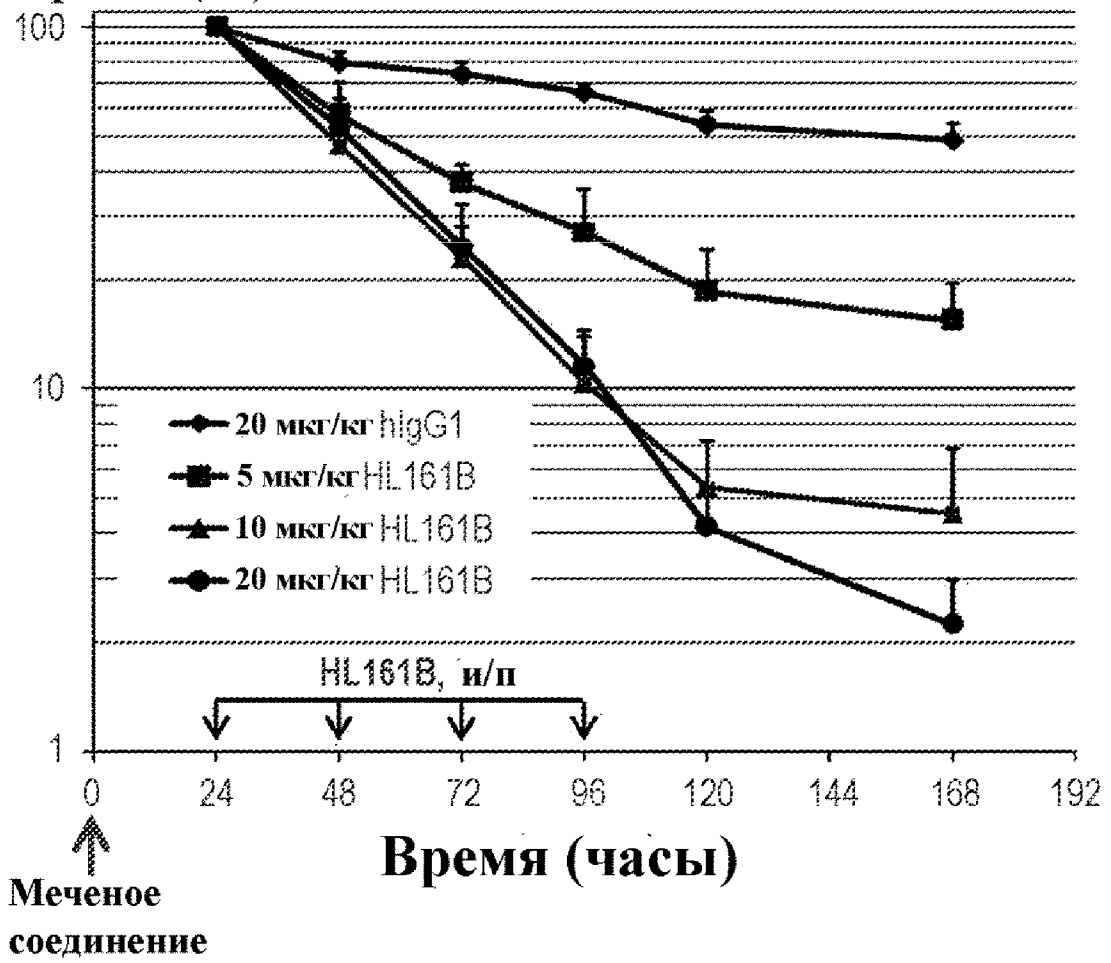
Фиг. 5А

**Биотин-hIgG
в сыворотке (%)**

HL161A

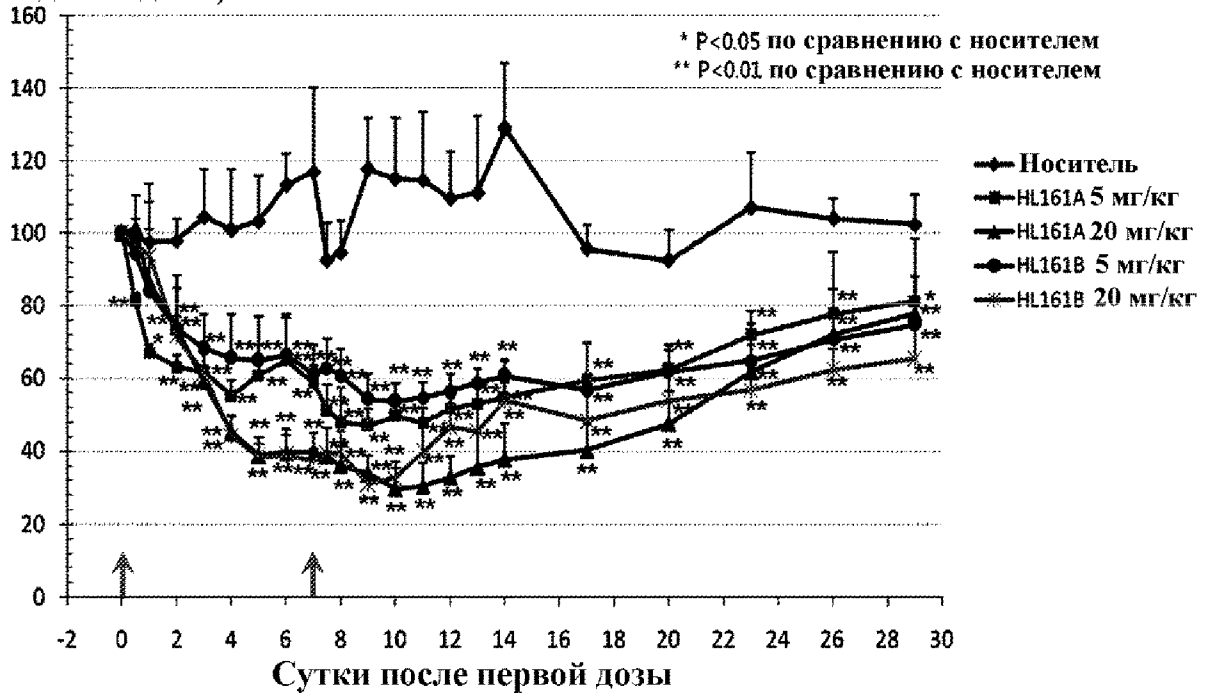


Фиг. 5В

Биотин-IgG**в сыворотке (%)****HL161B**

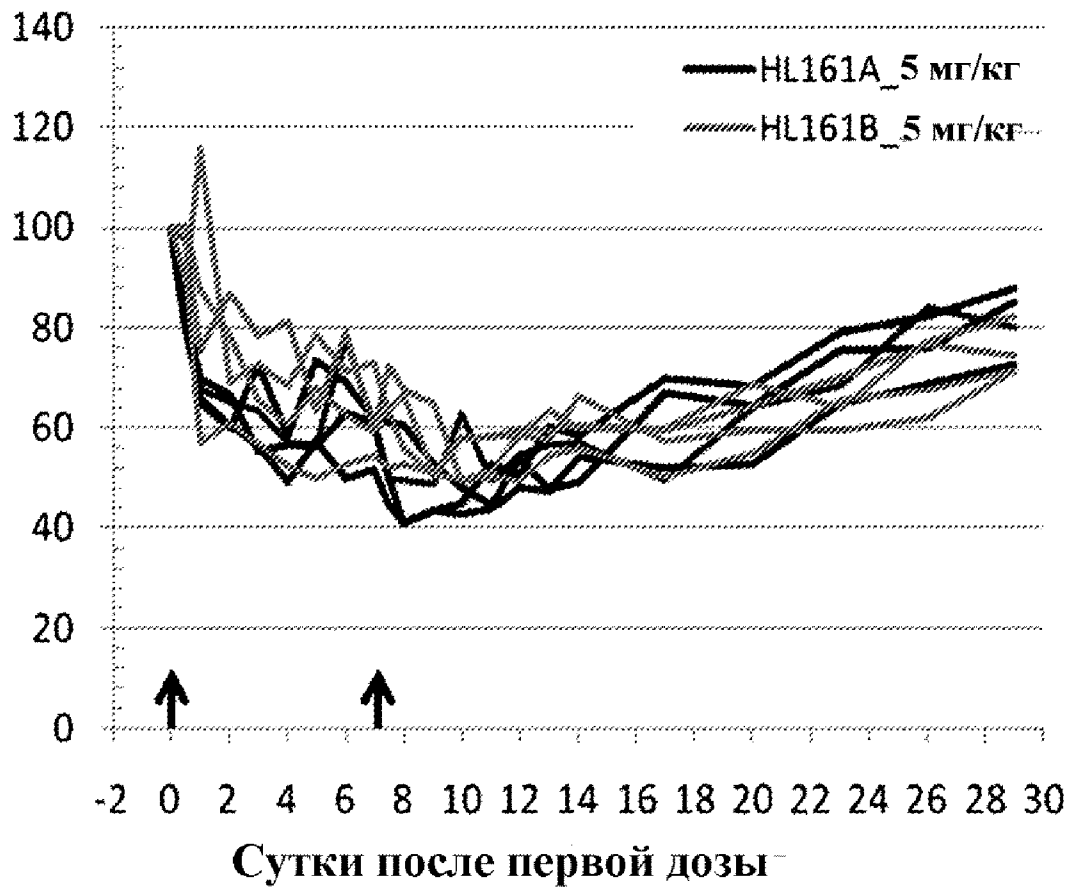
Фиг. 6А

IgG в сыворотке
(% до введения дозы)

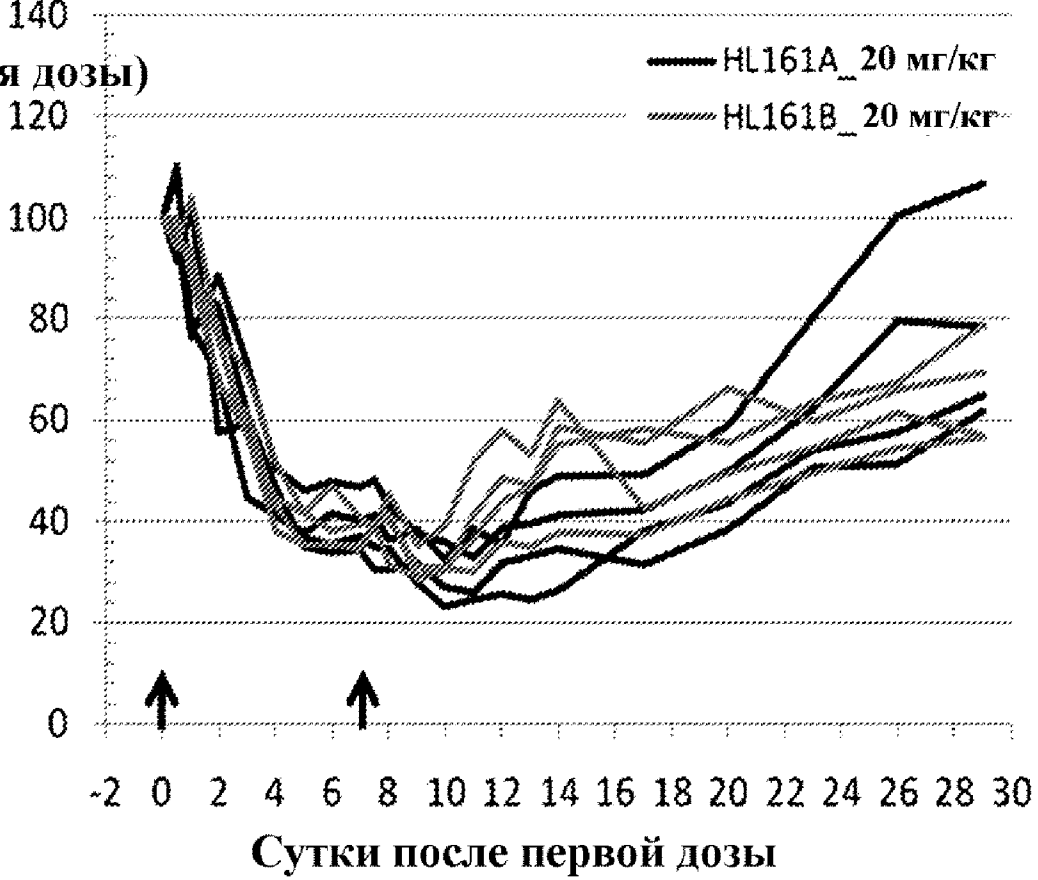


Фиг. 6В

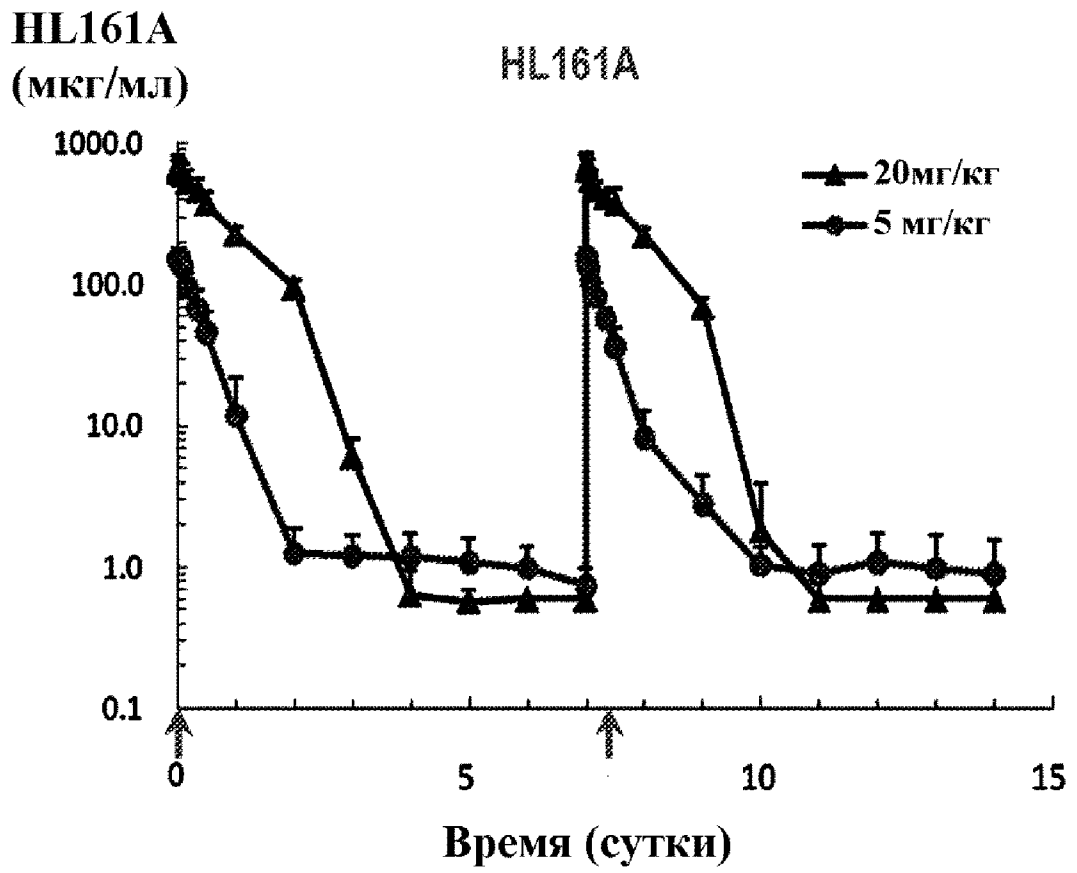
IgG в сыворотке
(% до введения дозы)



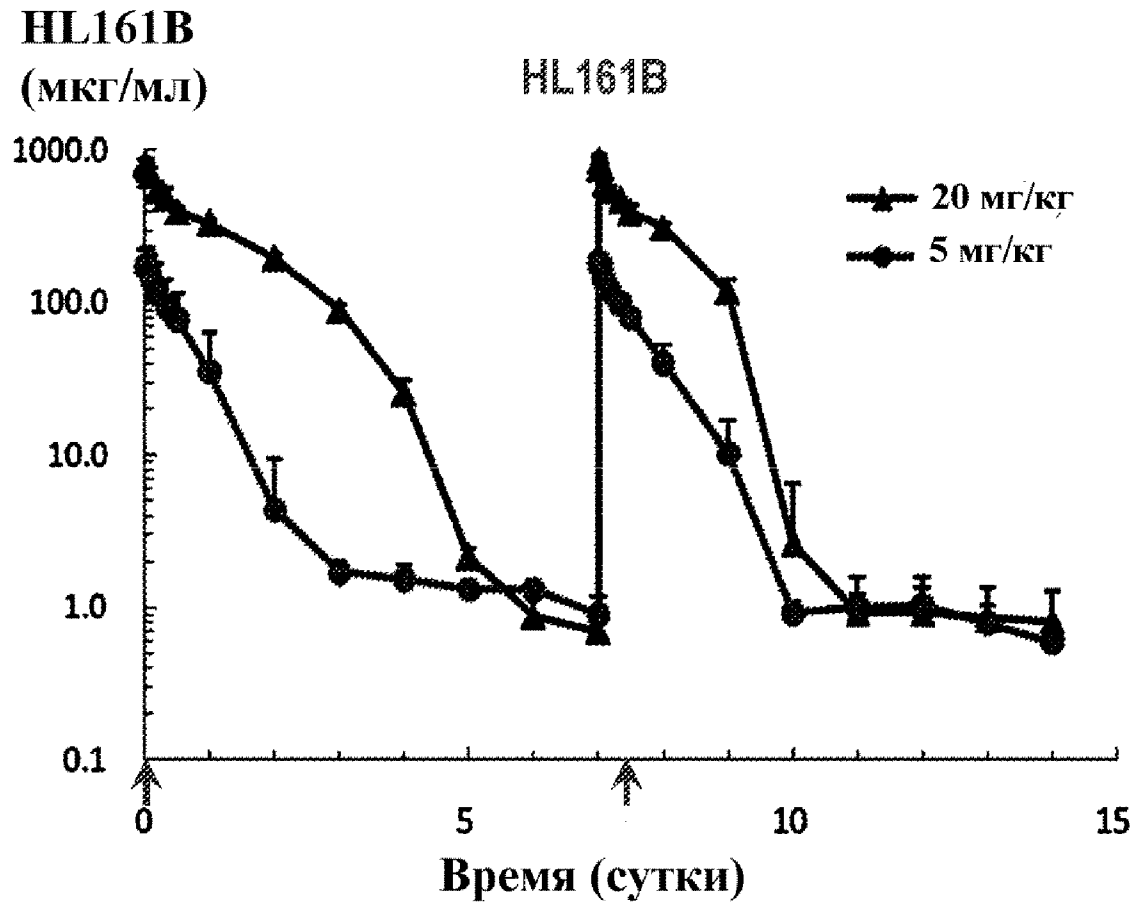
Фиг.6С

IgG в сыворотке**(% до введения дозы)**

Фиг.7А

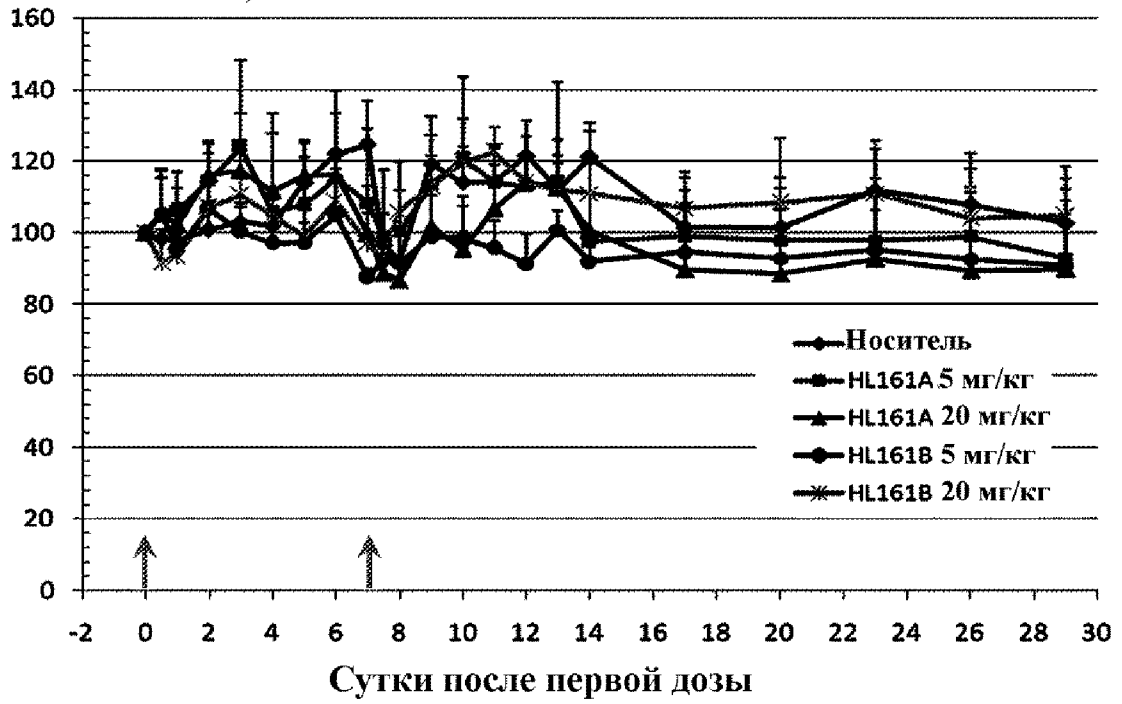


Фиг.7 В

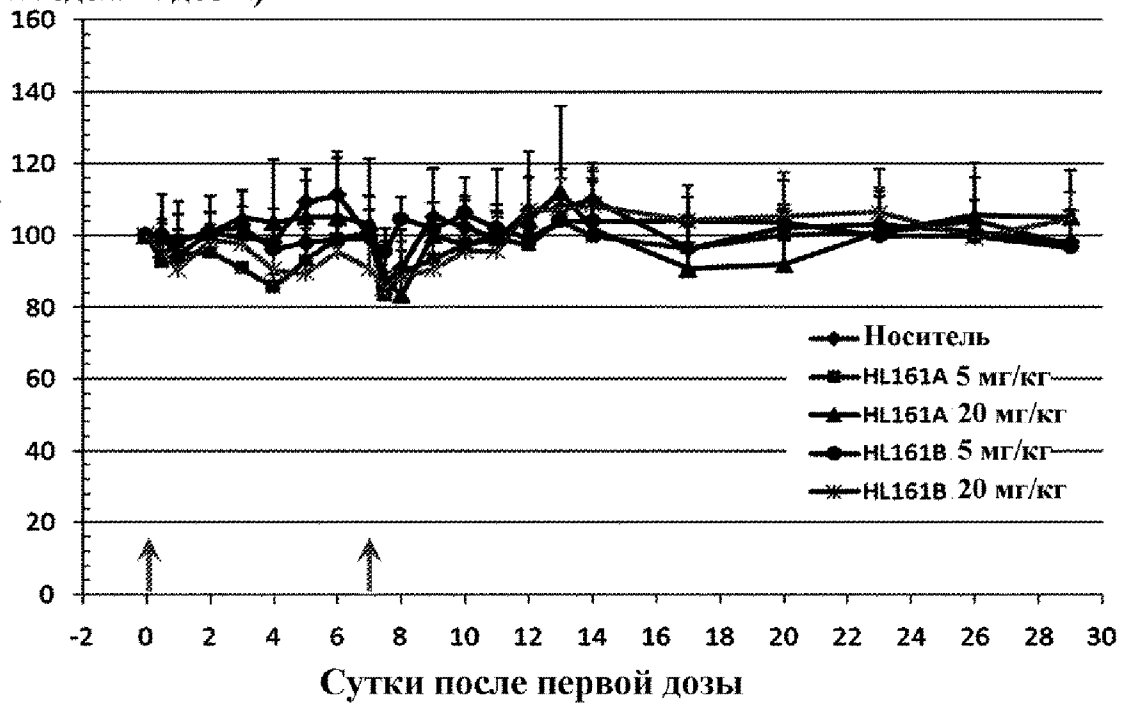


Фиг. 8А

IgM в сыворотке
(% до введения дозы)

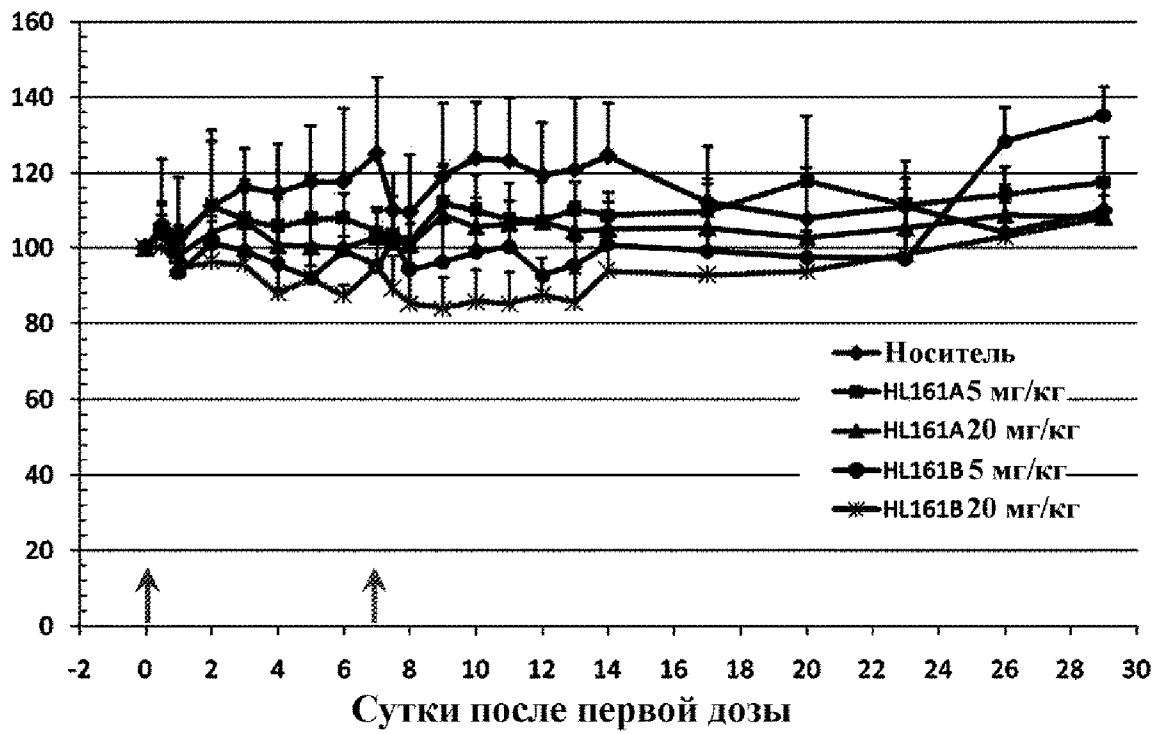


Фиг. 8В

**IgA в сыворотке
(% до введения дозы)**

Фиг. 8С

**Альбумин в сыворотке
(% до введения дозы)**

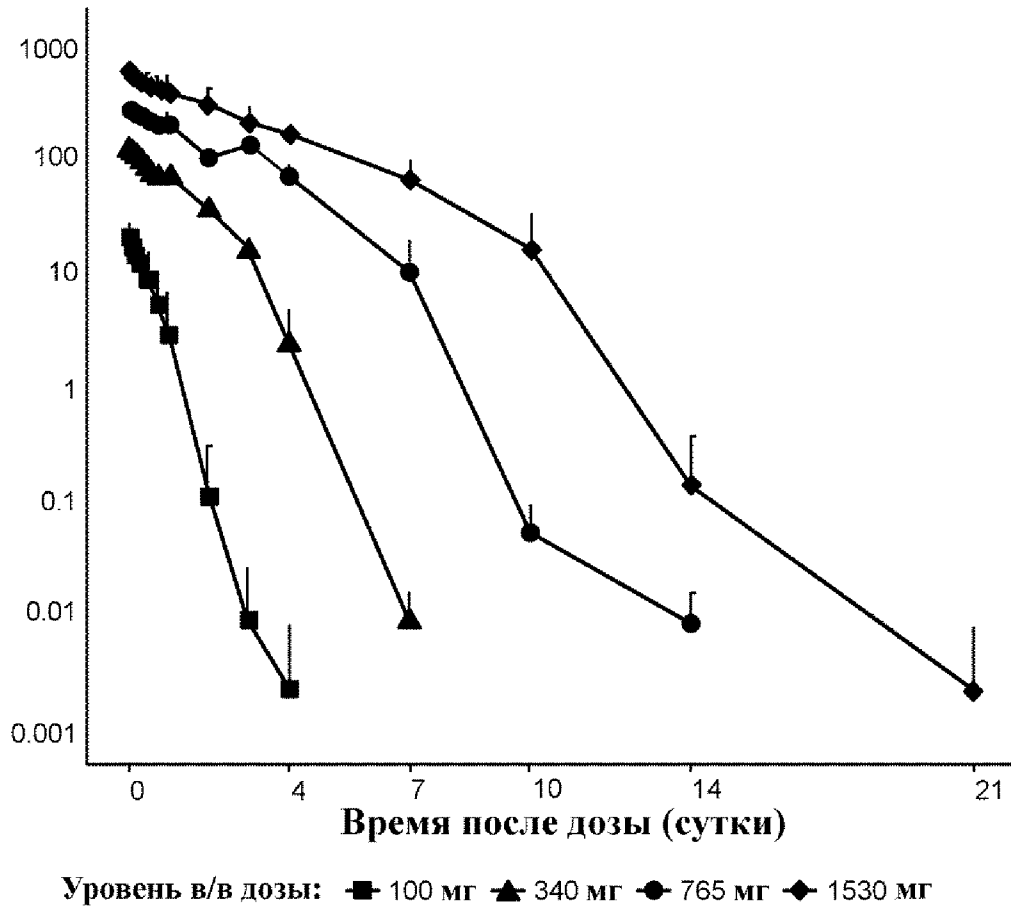


Фиг. 9



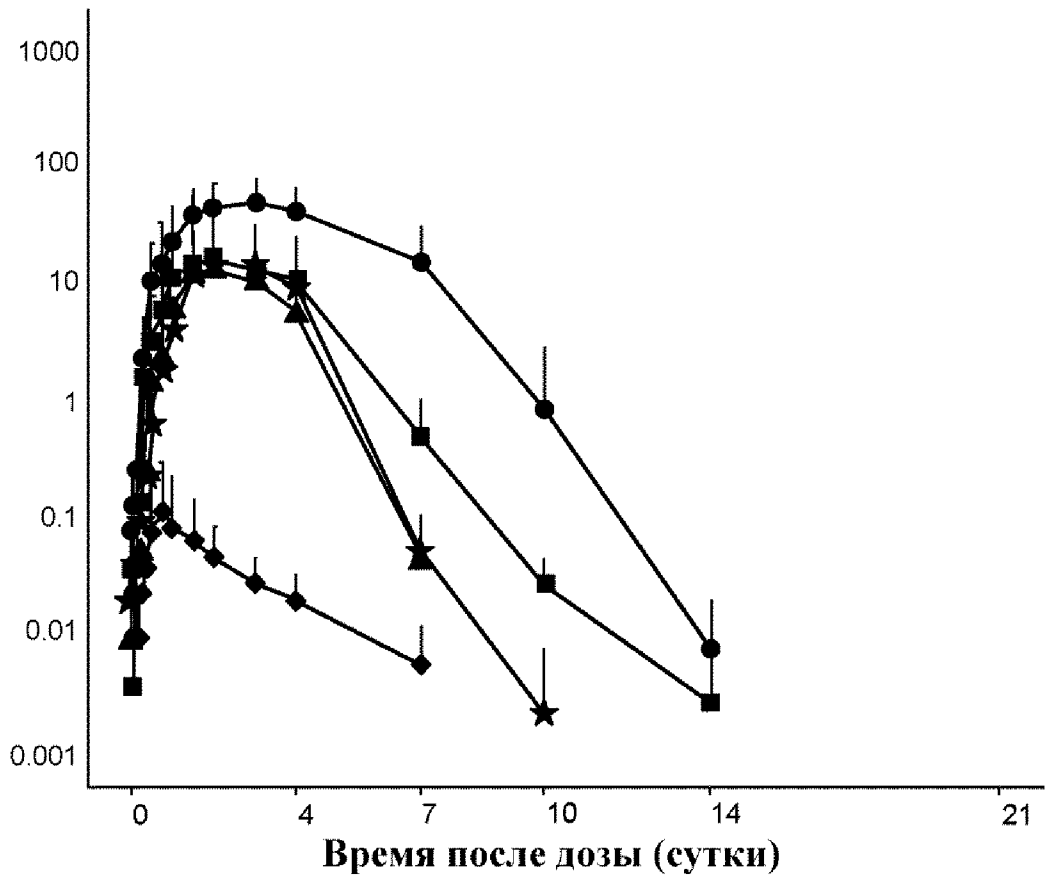
Фиг.10А

**Концентрация RVT-1401
(мкг/мл)**



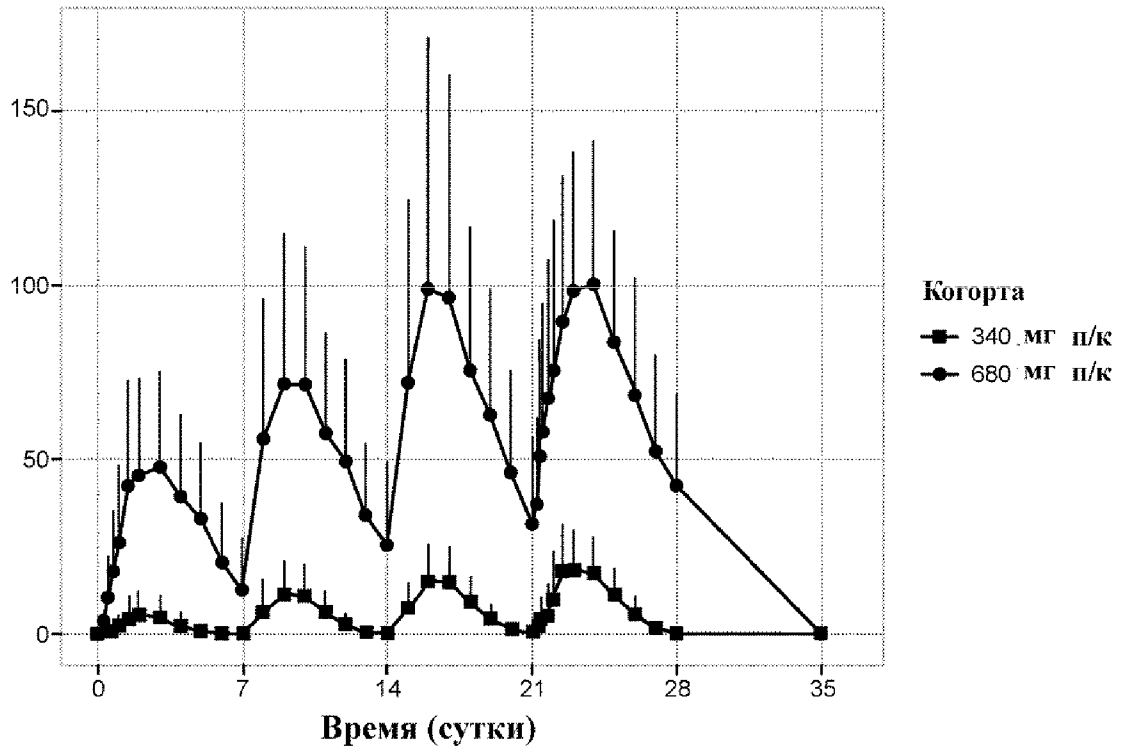
Фиг. 10В

**Концентрация RVT-1401
(мкг/мл)**



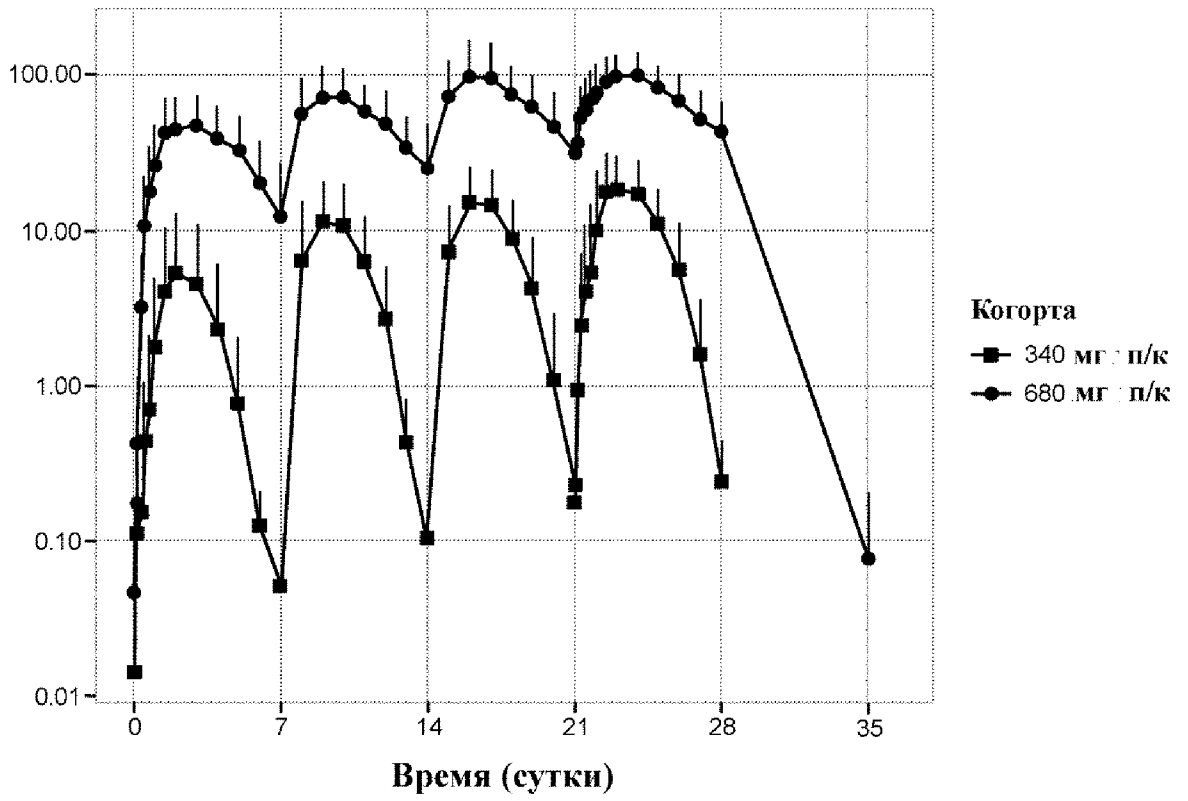
Фиг. 11А

Средняя концентрация
RVT-1401 (мкг/мл)



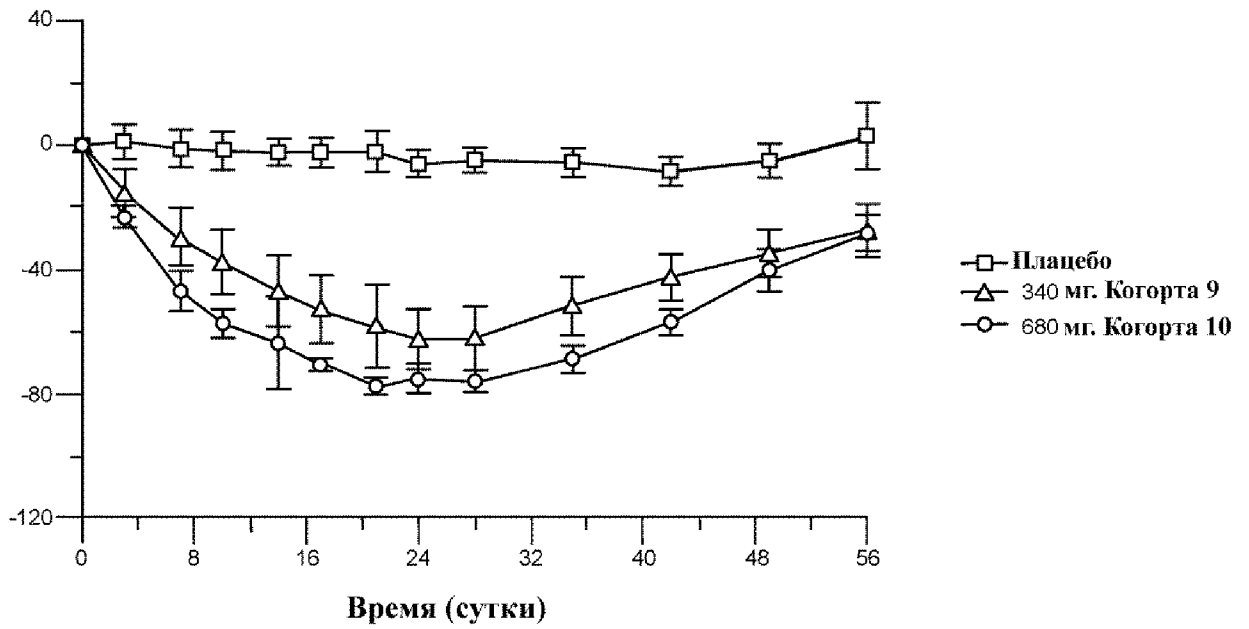
Фиг. 11В

Средняя концентрация
RVT-1401 (мкг/мл)



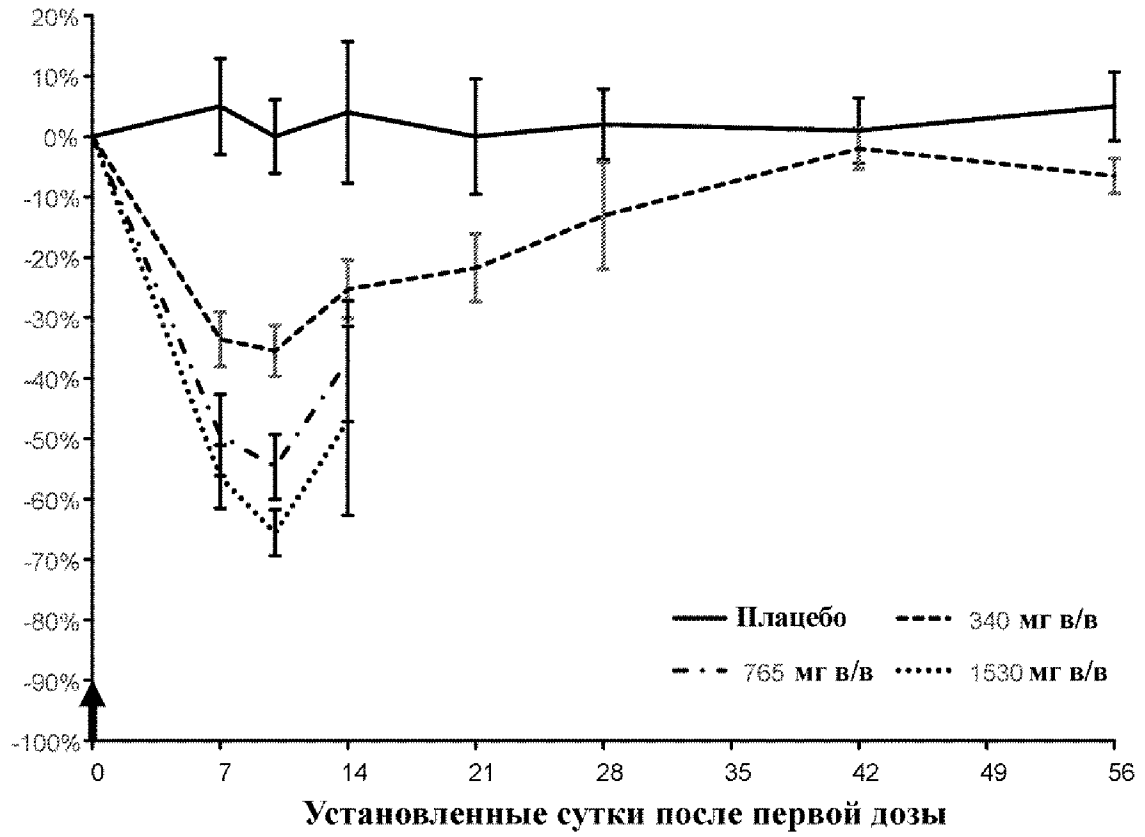
Фиг.12

Процентное изменение
общего IgG от исходного
(%)



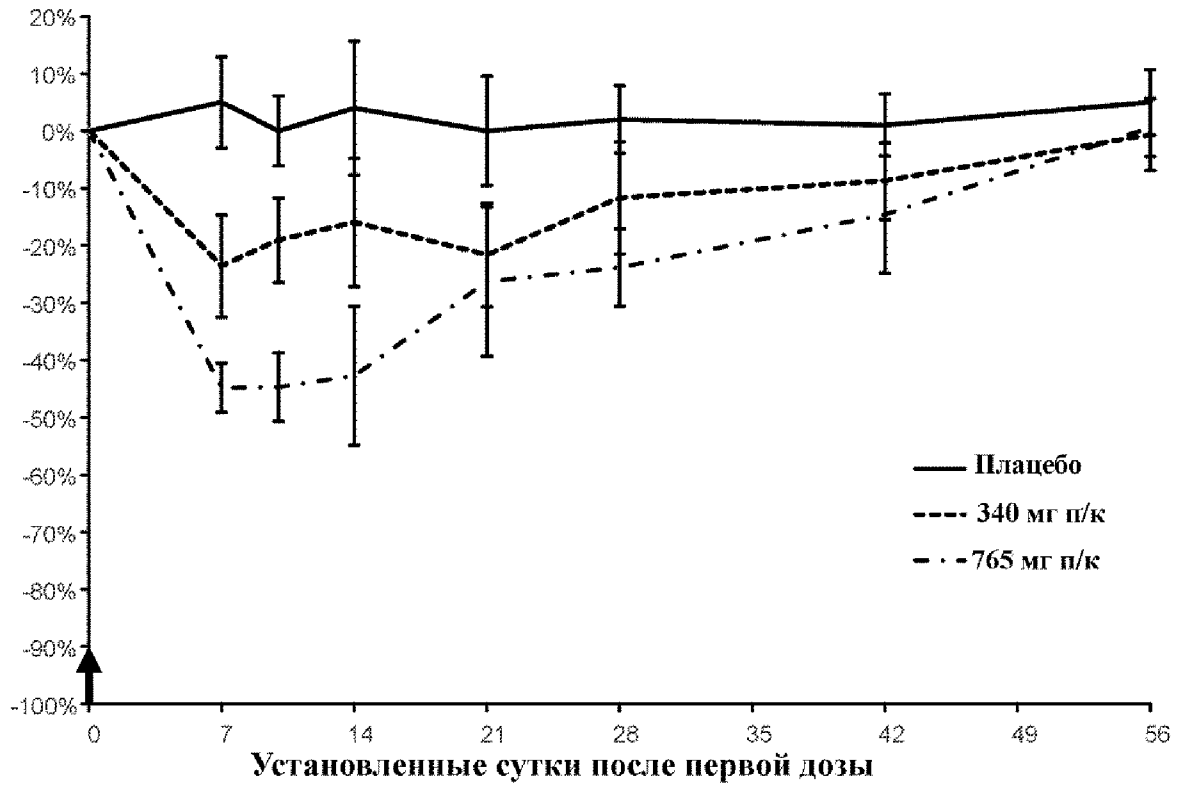
Фиг.13А

**Процентное снижение
сывороточного IgG
от исходного**



Фиг. 13В

**Процентное снижение
сывороточного IgG
от исходного**



Фиг.14А

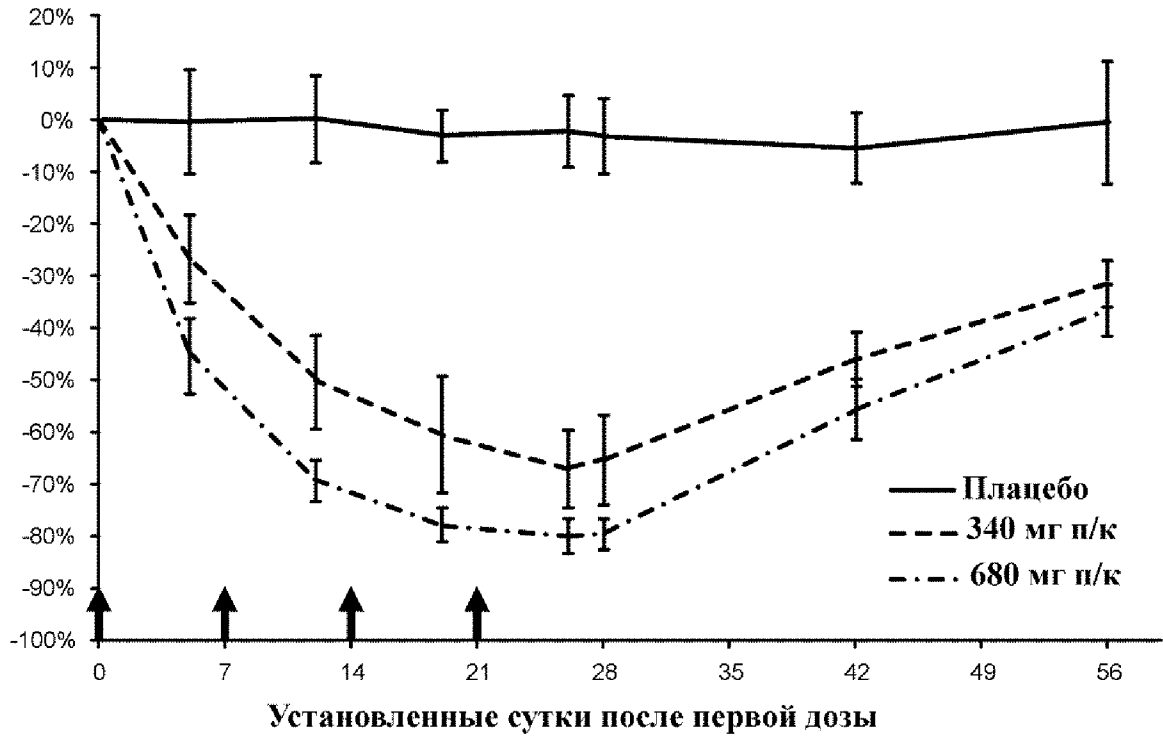
**Процентное снижение
сывороточного IgG
от исходного**



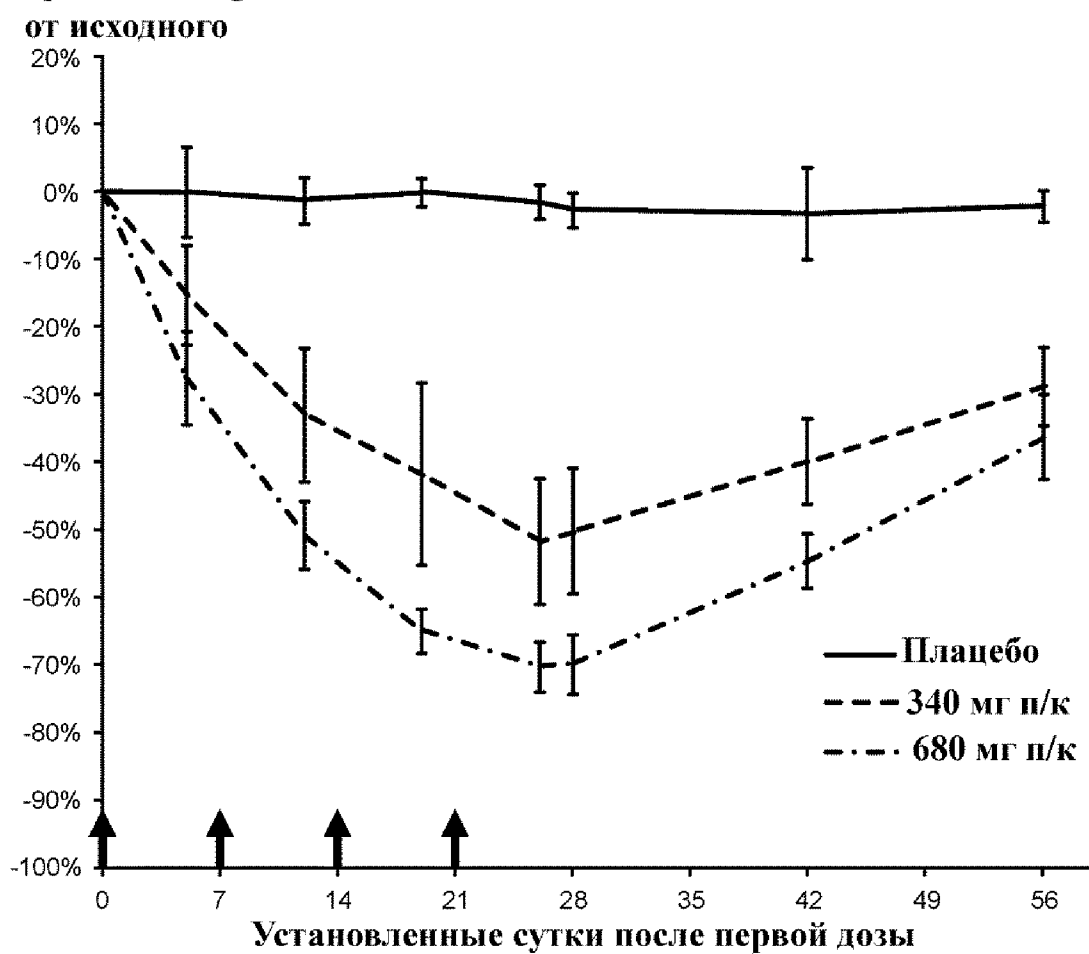
Фиг. 14В

**Процентное снижение
сывороточного IgG1**

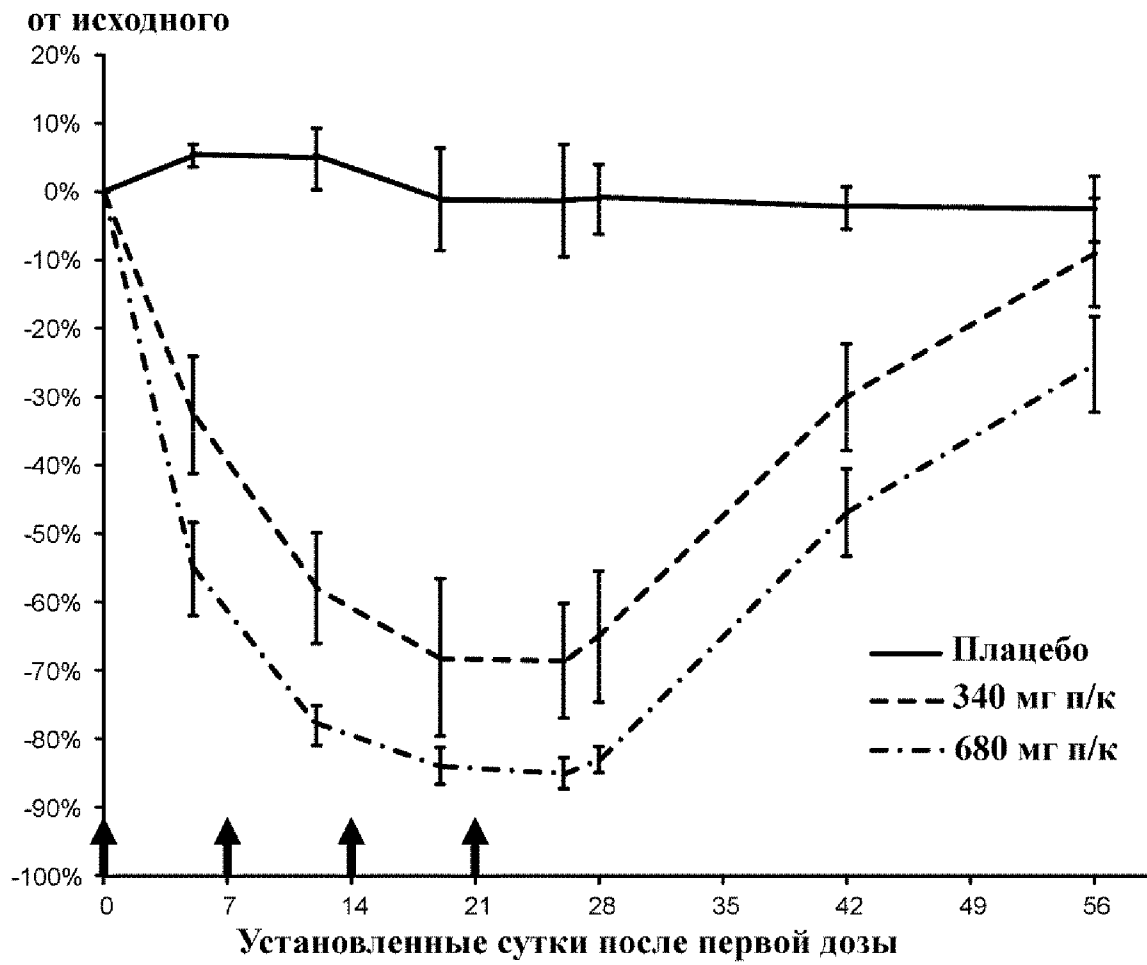
от исходного



Фиг. 14С

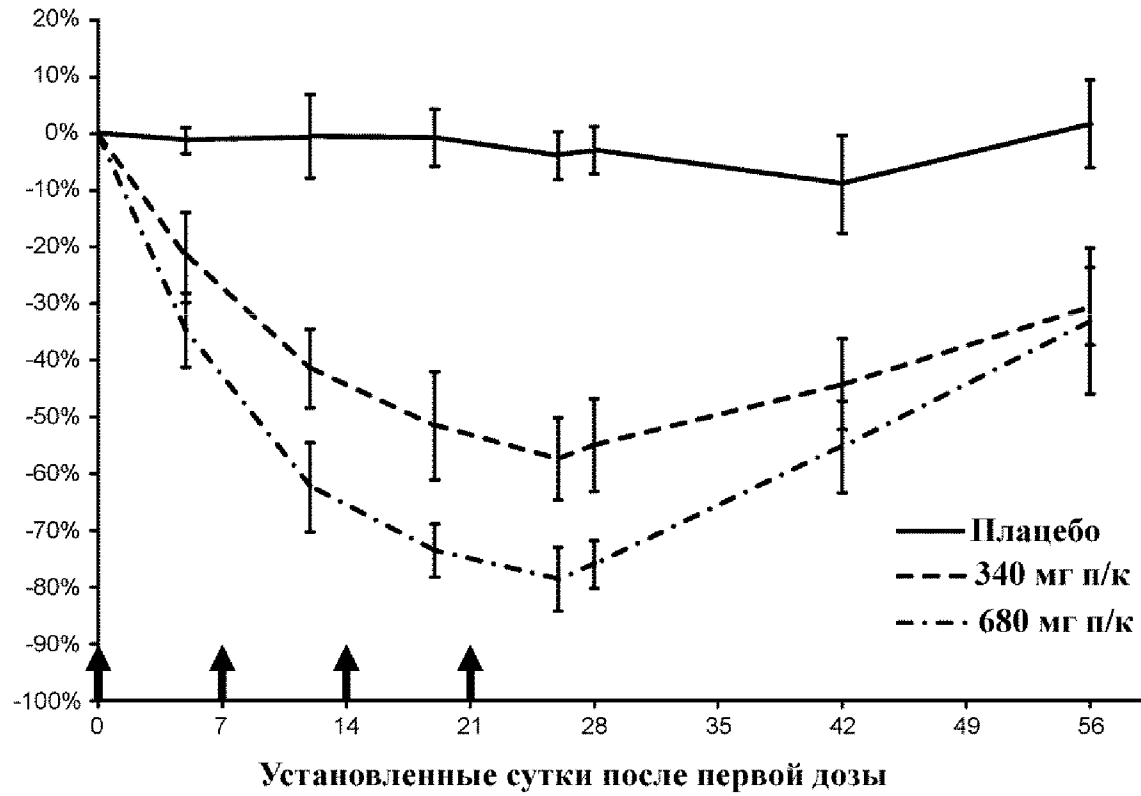
**Процентное снижение
сывороточного IgG2**

Фиг. 14D

**Процентное снижение
сывороточного IgG3**

Фиг. 14Е

**Процентное снижение
сывороточного IgG4
от исходного**



Фиг. 15

