

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291568** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2022.10.17

(22) Дата подачи заявки
2021.02.09

(51) Int. Cl. *C07K 16/40* (2006.01)
C07K 16/10 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

(54) **АНТИТЕЛА К TMPRSS2 И АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ ФРАГМЕНТЫ**

(31) 62/972,338; 63/021,016; 63/094,199

(32) 2020.02.10; 2020.05.06; 2020.10.20

(33) US

(86) PCT/US2021/017290

(87) WO 2021/163076 2021.08.19

(71) Заявитель:
**РЕГЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:

**Баум Алина, Киратсоус Кристос,
Перселл Лиза (US)**

(74) Представитель:

**Джермакян Р.В., Угрюмов В.М.,
Прищепный С.В., Гизатуллина Е.М.,
Строкова О.В., Костюшенкова М.Ю.,
Гизатуллин Ш.Ф. (RU)**

(57) В настоящем изобретении предусматриваются антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с TMPRSS2, и способы применения таких антител и фрагментов для лечения или предупреждения вирусных инфекций (например, коронавирусных инфекций или инфекций, вызванных вирусом гриппа).

A1

202291568

202291568

A1

АНТИТЕЛА К TMPRSS2 И АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ ФРАГМЕНТЫ

ЛИЦЕНЗИОННЫЕ ПРАВА ПРАВИТЕЛЬСТВА

[0001] Настоящее изобретение было создано при поддержке государства в рамках соглашения HNSO100201700020C, заключенного с Министерством здравоохранения и социальных служб США. Правительство имеет определенные права на настоящее изобретение.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Официальная копия перечня последовательностей подается одновременно с описанием в электронном виде через EFS-Web в виде перечня последовательностей в формате ASCII под названием «10737WO01_Sequence_Listing_ST25.txt», дата создания 9 февраля 2021 года, и размером приблизительно 64 Кб. Перечень последовательностей, содержащийся в данном документе формата ASCII, является частью описания и включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ НАСТОЯЩЕЕ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0003] Настоящее изобретение относится к антителам и антигенсвязывающим фрагментам, которые специфически связываются с TMPRSS2, и к способам лечения или предупреждения вирусных инфекций с помощью указанных антител и фрагментов.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] Вирусы, такие как вирус гриппа, приобрели устойчивость к применяемым в настоящее время лекарственным средствам, нацеленным на вирусную нейраминидазу (NA) или белок ионного канала, матричный белок 2 (M2). Более того, недавно идентифицированные вирусы (например, коронавирусы) трудно поддаются лечению, поскольку они охарактеризованы недостаточно. Появление резистентности к лекарственному средству и появление новых идентифицированных вирусов подчеркивает необходимость разработки новых противовирусных стратегий. Нацеливание на клетки-хозяева может уменьшить или предупредить появление

ускользающих мутантов, но может создать «воронку» из-за широкой экспрессии и вызвать опасения по поводу токсичности. Было показано, что несколько слитых белков респираторного вируса нуждаются в расщеплении протеазой(протеазами) хозяина для активации (Shirato *et al.* Clinical Isolates of Human Coronavirus 229E Bypass the Endosome for Cell Entry. *Journal of Virology*. 91, e01387–16 (2017); Reinke *et al.*, Different residues in the SARS-CoV spike protein determine cleavage and activation by the host cell protease TMPRSS2. *PLoS ONE*. 12, e0179177 (2017); Zhou *et al.*, Protease inhibitors targeting coronavirus and filovirus entry. *Antiviral Research*. 116, 76–84 (2015); Zmora *et al.* TMPRSS2 Isoform 1 Activates Respiratory Viruses and Is Expressed in Viral Target Cells. *PLoS ONE*. 10, e0138380 (2015)), включая вирус гриппа (Zmora *et al.*, Non-human primate orthologues of TMPRSS2 cleave and activate the influenza virus hemagglutinin. *PLoS ONE*. 12, e0176597 (2017); Böttcher-Friebertshäuser *et al.*, Inhibition of influenza virus infection in human airway cell cultures by an antisense peptide-conjugated morpholino oligomer targeting the hemagglutinin-activating protease TMPRSS2. *Journal of Virology*. 85, 1554–1562 (2011); Bertram *et al.*, TMPRSS2 and TMPRSS4 facilitate trypsin-independent spread of influenza virus in Caco-2 cells. *Journal of Virology*. 84, 10016–10025 (2010); Tarnow *et al.*, TMPRSS2 is a host factor that is essential for pneumotropism and pathogenicity of H7N9 influenza A virus in mice. *Journal of Virology* (2014), May;88(9):4744-51) и коронавируса (Heurich *et al.*, TMPRSS2 and ADAM17 cleave ACE2 differentially and only proteolysis by TMPRSS2 augments entry driven by the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein. *Journal of Virology*. 88, 2202-2013 (2014)).

[0005] Предшественник гемагглютинина гриппа А (HA0) нуждается в расщеплении сериновой протеазой хозяина на HA1 и HA2 для активации. Например, трансмембранная протеаза, серин 2; TMPRSS2, TMPRSS4 и TMPRSS11D, а также трипсиноподобная протеаза дыхательных путей человека (HAT) были причастны к расщеплению HA (Bertram *et al.*, TMPRSS2 and TMPRSS4 facilitate trypsin-independent spread of influenza virus in Caco-2 cells. *Journal of Virology*. 84, 10016–10025 (2010); Böttcher *et al.*, Proteolytic Activation of Influenza Viruses by Serine Proteases TMPRSS2 and HAT from Human Airway Epithelium. *Journal of Virology*. 2006 Oct;80(19):9896-8;

Публикация международной заявки на патент № WO2017/151453). TMPRSS2 также расщепляет и активирует шиповидный белок у коронавирусов, например, у коронавируса тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV) (Heurich *et al.*, TMPRSS2 and ADAM17 cleave ACE2 differentially and only proteolysis by TMPRSS2 augments entry driven by the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein. Journal of Virology. 88, 2202-2013 (2014)). В дополнение, TMPRSS2 является мишенью для противоракового лечения. См. *например*, WO2008127347 и WO2002004953. Слияние между TMPRSS2 и ERG (TMPRSS2:ERG) представляет собой слияние генов, которое, как известно, является основным фактором канцерогенеза простаты, который запускается ER α и подавляется ER β . Bonkhoff, Estrogen receptor signaling in prostate cancer: Implications for carcinogenesis and tumor progression, Prostate 78(1): 2-10 (2018).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] Хотя существуют низкомолекулярные ингибиторы TMPRSS2 и исследовательские антитела, применяемые, например, в иммуногистохимическом анализе, в данной области техники существует потребность в нейтрализующих терапевтических антителах к TMPRSS2 и их применении для лечения или предупреждения вирусной инфекции. См. *например*, Shen *et al.* Biochimie 142: 1-10 (2017), WO2008127347; WO2002004953; US9498529; антитело ab92323, доступное от Abcam (Cambridge, MA) или антитела sc-515727 и sc-101847, доступные от Santa Cruz Biotech (Dallas, TX). В настоящем изобретении частично удовлетворяют данную потребность посредством предоставления антител к TMPRSS2 человека, таких как mAb8021, mAb8029 и mAb8028, и их комбинаций, включая, например, комбинации с другими терапевтическими средствами, такими как антитела к HA вируса гриппа (например, HA группы I или HA группы II) или антитела к шиповидному белку коронавируса (*например*, коронавируса тяжелого острого респираторного синдрома (SARS) (SARS-CoV), коронавируса ближневосточного респираторного синдрома (MERS) (MERS-CoV) и SARS-CoV-2 (коронавируса, ответственного за COVID-19, ранее называвшегося 2019-nCoV)), и способы их применения для осуществления лечения вирусных инфекций.

[0007] В настоящем изобретении предусматриваются нейтрализующие антигенсвязывающие белки человека, которые специфически связываются с TMPRSS2 человека, например, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты. В некоторых аспектах антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляют собой выделенное рекомбинантное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит: (a) CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 22 или 42; и/или (b) CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 30 или 50. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок содержит: (a) переменную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 10, 30 или 50; и/или (b) переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 2, 22 или 42. В одном варианте осуществления настоящего изобретения предусматривается антигенсвязывающий белок, содержащий: (a) CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 30 или 50 и характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 10, 30 или 50; и/или (b) CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 22 или 42, и характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 2, 22 или 42. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок содержит

вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит (a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность: F T F R S Y D (SEQ ID NO: 4); (b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность: G S A G D T (SEQ ID NO: 6); (c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность: R V G D W G S G Y L D Y (SEQ ID NO: 8); и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит (a) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность: S I S I Y (SEQ ID NO: 12); (b) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность: A S (SEQ ID NO: 14); и/или (c) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность: Q S Y G T P F T (SEQ ID NO: 16). В настоящем изобретении также предусмотрен антигенсвязывающий белок, содержащий: (a) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 18, 38 или 58, и/или легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 20, 40 или 60.

[0008] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, выделенное рекомбинантное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с трансмембранной сериновой протеазой 2 человека (TMPRSS2), обладает одной или несколькими из следующих характеристик:

(a) связывается с TMPRSS2 с EC_{50} , составляющей менее чем приблизительно 10^{-9} М;

(b) демонстрирует увеличение выживаемости у животного, инфицированного коронавирусом, после введения указанному животному, инфицированному коронавирусом, по сравнению с сопоставимым животным, инфицированным коронавирусом, по отношению к которому указанное введение не осуществлялось; и/или

(c) содержит

(i) три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащиеся в пределах вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с HCVR,

представленной под SEQ ID NO: 2; и три CDR легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), содержащиеся в пределах вариабельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с LCVR, представленной под SEQ ID NO: 10 или

(ii) три CDR тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащиеся в пределах HCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с HCVR, представленной под SEQ ID NO: 22; и три CDR легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), содержащиеся в пределах LCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с LCVR, представленной под SEQ ID NO: 30; или

(iii) три CDR тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащиеся в пределах HCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с HCVR, представленной под SEQ ID NO: 42; и три CDR легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), содержащиеся в пределах LCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с LCVR, представленной под SEQ ID NO: 50.

[0009] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит три CDR тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащиеся в пределах HCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с HCVR, представленной под SEQ ID NO: 2; и три CDR легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), содержащиеся в пределах LCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей

мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с LCVR, представленной под SEQ ID NO: 10.

[00010] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2; и/или (b) вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10.

[00011] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 2; и/или (b) вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 10.

[00012] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит

(a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4,

(b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6, и/или

(c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 8 и/или

вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, которая включает

(a) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 12,

(b) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 14, и/или

(c) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

[00013] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит: (a) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 18, или вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2; и/или (b) легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 20, или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10.

[00014] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит три CDR тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащиеся в пределах HCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с HCVR, представленной под SEQ ID NO: 22; и три CDR легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), содержащиеся в пределах LCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с LCVR, представленной под SEQ ID NO: 30.

[00015] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит (a) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи

иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 22; и/или (b) переменную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 30.

[00016] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит (a) переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 22; и/или (b) переменную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 30.

[00017] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит

(a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 24,

(b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 26, и/или

(c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28 и/или

переменную область легкой цепи иммуноглобулина, которая включает

(a) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 32,

(b) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 34, и/или

(c) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 36.

[00018] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит: (a) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 38, или вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 22; и/или (b) легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 40, или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 30.

[00019] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит: три CDR тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащиеся в пределах HCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с HCVR, представленной под SEQ ID NO: 42; и три CDR легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), содержащиеся в пределах LCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с LCVR, представленной под SEQ ID NO: 50.

[00020] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 42; и/или (b) вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 50.

[00021] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит: (a) переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 42; и/или (b) переменную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 30.

[00022] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит:

(a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 44,

(b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 46, и/или

(c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 48 и/или

переменную область легкой цепи иммуноглобулина, которая включает

(a) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52,

(b) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54, и/или

(c) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 56.

[00023] В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок, например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит (a) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID

NO: 58; или переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 42;

и/или (b) легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 60, или переменную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 50.

[00024] В настоящем изобретении также предусматривается любой антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, который конкурирует с любым антигенсвязывающим белком, представленным в данном документе, за связывание с TMPRSS2 (*например*, как определено с использованием анализа на основе интерферометрии на биологическом слое без меток в реальном времени, *например*, на биосенсоре Octet RED384 (Pall ForteBio Corp.)); или который связывается с аналогичным или перекрывающимся эпитопом на TMPRSS2 (или его фрагментом), как и любой антигенсвязывающий белок, представленный в данном документе.

[00025] В настоящем изобретении также предусматриваются полиспецифические антигенсвязывающие белки, которые связываются с TMPRSS2 и другим антигеном или с TMPRSS2 в другом эпитопе. Например, полиспецифическая молекула содержит (a) первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с TMPRSS2; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с другим антигеном или с TMPRSS2, или с эпитопом, который отличается от эпитопа первого антигенсвязывающего домена. В некоторых аспектах полиспецифический антигенсвязывающий белок представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[00026] В настоящем изобретении также предусматривается любой антигенсвязывающий белок к TMPRSS2 (*например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, *например*, содержащий последовательность, представленную в данном документе), который обладает одним или несколькими из следующих свойств.

- Подавляет рост вируса гриппа (*например*, A/Puerto Rico/08/1934 (H1N1)) или коронавируса (*например*, SARS-CoV, MERS-CoV или SARS-CoV-2) в клетках, экспрессирующих TMPRSS2 (*например*, в клетках Calu-3).
- Связывается с поверхностью клеток, экспрессирующих TMPRSS.
- Не связывается в значительной степени с клетками MDCK/Tet-on, которые не экспрессируют TMPRSS2.
- Ограничивает распространение инфекции вируса гриппа или коронавирусной инфекции в клетках *in vitro*; и/или
 - защищает мышь, подвергнутую генной инженерии, для экспрессии человеческого белка TMPRSS2, от смерти и/или потери веса, вызванных инфекцией вирусом гриппа или коронавирусной инфекцией.

[00027] В настоящем изобретении также предусматривается комплекс, содержащий любой из указанных в данном документе антигенсвязывающих белков, связанных с полипептидом TMPRSS2, *например*, *in vitro* или в организме субъекта.

[00028] В настоящем изобретении также предусматривается способ получения антигенсвязывающего белка антитела к TMPRSS2, предоставленного в данном документе (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029), или его цепи иммуноглобулина, включающий: (a) введение одного или нескольких полинуклеотидов, кодирующих легкую и/или тяжелую цепь иммуноглобулина указанного антигенсвязывающего белка; (b) культивирование клетки-хозяина (*например*, клетки CHO, клетки *Pichia* или клетки *Pichia pastoris*) в условиях, благоприятных для экспрессии полинуклеотида; и (c) необязательно выделение антигенсвязывающего белка или цепи иммуноглобулина из клетки-хозяина и/или среды, в которой растет клетка-хозяин. Антигенсвязывающий белок или цепь иммуноглобулина, которые являются продуктом такого способа, являются частью настоящего изобретения.

[00029] Полипептид, содержащий: (a) CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 домена V_H антитела или антигенсвязывающего фрагмента, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под любым SEQ ID NO: 2, 22 или 42; или (b) CDR-

L1, CDR-L2 и CDR-L3 домена V_L цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 30 или 50, также составляет часть настоящего изобретение. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусматривается полинуклеотид, кодирующий указанный полипептид.

[00030] Полипептид (*например*, иммуноглобулин), содержащий: (a) CDR1, CDR2 и CDR3 домена V_H цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2; или (b) CDR1, CDR2 и CDR3 домена V_L цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10 (*например*, где полипептид находится в клетке-хозяине), также составляет часть настоящего изобретение. Аналогичным образом, в настоящем изобретении предусматривается полипептид, содержащий (a) CDR1, CDR2 и CDR3 домена V_H цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 22; или (b) CDR1, CDR2 и CDR3 домена V_L цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 30 (*например*, где полипептид находится в клетке-хозяине). Аналогичным образом, в настоящем изобретении предусматривается полипептид, содержащий (a) CDR1, CDR2 и CDR3 домена V_H цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 42; или (b) CDR1, CDR2 и CDR3 домена V_L цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 50 (*например*, где полипептид находится в клетке-хозяине). В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусматривается полинуклеотид, кодирующий указанный полипептид.

[00031] В настоящем изобретении также предусматривается полинуклеотид (*например*, ДНК или РНК), который кодирует полипептид по настоящему изобретению. В одном варианте осуществления настоящего изобретения полинуклеотид кодирует две разные цепи иммуноглобулина (*например*, тяжелую и легкую). В одном варианте осуществления настоящего изобретения один полинуклеотид кодирует легкую цепь

иммуноглобулина и другой полинуклеотид кодирует тяжелую цепь иммуноглобулина, *например*, где цепи находятся в клетке-хозяине или в сосуде. Например, полинуклеотид находится в векторе (*например*, в плазмиде) и/или интегрирован в хромосому клетки-хозяина.

[00032] В настоящем изобретении также предусматривается вектор, содержащий полинуклеотид, описанный в данном документе.

[00033] Клетки-хозяева (*например*, клетка CHO, клетка *Pichia* или клетка *Pichia pastoris*) по настоящему изобретению могут содержать антигенсвязывающий белок антитела к TMPRSS2 (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029), его полипептид или полинуклеотид, кодирующий такой полипептид, и/или вектор, содержащий такой полинуклеотид.

[00034] В настоящем изобретении также предусматривается композиция или набор, содержащие антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, представленный в данном документе (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029) в комбинации с дополнительным терапевтическим средством (*например*, противовирусным лекарственным средством и/или вакциной). Например, композиция может представлять собой фармацевтическую композицию, содержащую антигенсвязывающий белок и фармацевтически приемлемый носитель и, необязательно, дополнительное терапевтическое средство. Дополнительное терапевтическое средство может представлять собой ремдесивир, хлорохин, лопинавир, ритонавир, рибавирин, ледипасвир, софосбувир, комбинацию ледипасвира и софосбувира, осельтамивир, занамивир, рибавирин и интерферон-альфа2b, интерферон-альфа2a и/или антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с HA гриппа или шиповидным белком коронавируса. В одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительным терапевтическим средством является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, выбранные из группы, состоящей из H1N14611N2; H1N14612N2; H1N11723P; H1N11729P; H1N11820N; H1N11829N; H1N11829N2; H2aM11829N; H2M11830N; H1N11830N2; H1N11903N; H1N14571N; H2a14571N ; H1N11704P; H1N11711P; H1N11714P; H1N11717P; H1N11724P; H1N11727P;

H1H11730P2; H1H11731P2; H1H11734P2; H1H11736P2; H1H11742P2; H1H11744P2;
H1H11745P2; H1H11747P2; H1H11748P2; H1H17952B; H1H17953B; H1H17954B;
H1H17955B; H1H17956B; H1H17957B; H1H17958B; H1H17959B; H1H17960B;
H1H17961B; H1H17962B; H1H17963B; H1H17964B; H1H17965B; H1H17966B;
H1H17967B; H1H17968B; H1H17969B; H1H17970B; H1H17971B; H1H17972B;
H1H17973B; H1H17974B; H1H17975B; H1H17976B; H1H17977B; H1H17978B;
H1H17979B; H1H17980B; H1H17981B; H1H17982B; H1H17983B; H1H17984B;
H1H17985B; H1H17986B; H1H17987B; H1H17988B; H1H17989B; H1H17990B;
H1H17991B; H1H17992B; H1H17993B; H1H17994B; H1H17995B; H1H17996B;
H1H17997B; H1H17998B; H1H17999B; H1H18000B; H1H18001B; H1H18002B;
H1H18003B; H1H18004B; H1H18005B; H1H18006B; H1H18007B; H1H18008B;
H1H18009B; H1H18010B; H1H18011B; H1H18012B; H1H18013B; H1H18014B;
H1H18015B; H1H18016B; H1H18017B; H1H18018B; H1H18019B; H1H18020B;
H1H18021B; H1H18022B; H1H18023B; H1H18024B; H1H18025B; H1H18026B;
H1H18027B; H1H18028B; H1H18029B; H1H18030B; H1H18031B; H1H18032B;
H1H18033B; H1H18034B; H1H18035B; H1H18037B; H1H18038B; H1H18039B;
H1H18040B; H1H18041B; H1H18042B; H1H18043B; H1H18044B; H1H18045B;
H1H18046B; H1H18047B; H1H18048B; H1H18049B; H1H18051B; H1H18052B;
H1H18053B; H1H18054B; H1H18055B; H1H18056B; H1H18057B; H1H18058B;
H1H18059B; H1H18060B; H1H18061B; H1H18062B; H1H18063B; H1H18064B;
H1H18065B; H1H18066B; H1H18067B; H1H18068B; H1H18069B; H1H18070B;
H1H18071B; H1H18072B; H1H18073B; H1H18074B; H1H18075B; H1H18076B;
H1H18077B; H1H18078B; H1H18079B; H1H18080B; H1H18081B; H1H18082B;
H1H18083B; H1H18084B; H1H18085B; H1H18086B; H1H18087B; H1H18088B;
H1H18089B; H1H18090B; H1H18091B; H1H18092B; H1H18093B; H1H18094B;
H1H18095B; H1H18096B; H1H18097B; H1H18098B; H1H18099B; H1H18100B;
H1H18101B; H1H18102B; H1H18103B; H1H18104B; H1H18105B; H1H18107B;
H1H18108B; H1H18109B; H1H18110B; H1H18111B; H1H18112B; H1H18113B;
H1H18114B; H1H18115B; H1H18116B; H1H18117B; H1H18118B; H1H18119B;
H1H18120B; H1H18121B; H1H18122B; H1H18123B; H1H18124B; H1H18125B;

H1H18126B; H1H18127B; H1H18128B; H1H18129B; H1H18130B; H1H18131B;
H1H18132B; H1H18133B; H1H18134B; H1H18135B; H1H18136B; H1H18137B;
H1H18138B; H1H18139B; H1H18140B; H1H18141B; H1H18142B; H1H18143B;
H1H18144B; H1H18145B; H1H18146B; H1H18147B; H1H18148B; H1H18149B;
H1H18150B; H1H18151B; H1H18152B; H1H18153B; H1H18154B; H1H18155B;
H1H18156B; H1H18157B; H1H18158B; H1H18159B; H1H18160B; H1H18161B;
H1H18162B; H1H18163B; H1H18164B; H1H18165B; H1H18166B; H1H18167B;
H1H18168B; H1H18169B; H1H18170B; H1H18171B; H1H18172B; H1H18173B;
H1H18174B; H1H18175B; H1H18176B; H1H18177B; H1H18178B; H1H18179B;
H1H18180B; H1H18181B; H1H18182B; H1H18183B; H1H18184B; H1H18185B;
H1H18186B; H1H18187B; H1H18188B; H1H18189B; H1H18190B; H1H18191B;
H1H18192B; H1H18193B; H1H18194B; H1H18195B; H1H18196B; H1H18197B;
H1H18198B; H1H18199B; H1H18200B; H1H18201B; H1H18202B; H1H18203B;
H1H18204B; H1H18205B; H1H18206B; H1H18207B; H1H18208B; H1H18209B;
H1H18210B; H1H18211B; H1H18212B; H1H18213B; H1H18214B; H1H18216B;
H1H18217B; H1H18218B; H1H18219B; H1H18220B; H1H18221B; H1H18222B;
H1H18223B; H1H18224B; H1H18225B; H1H18226B; H1H18227B; H1H18228B;
H1H18229B; H1H18230B; H1H18231B; H1H18232B; H1H18233B; H1H18234B;
H1H18235B; H1H18236B; H1H18237B; H1H18238B; H1H18239B; H1H18240B;
H1H18241B; H1H18242B; H1H18243B; H1H18244B; H1H18245B; H1H18246B;
H1H18247B; H1H18248B; H1H18249B; H1H18250B; H1H18251B; H1H18252B;
H1H18253B; H1H18254B; H1H18255B; H1H18256B; H1H18257B; H1H18258B;
H1H18259B; H1H18261B; H1H18262B; H1H18263B; H1H18264B; H1H18265B;
H1H18266B; H1H18267B; H1H18268B; H1H18269B; H1H18270B; H1H18271B;
H1H18272B; H1H18274B; H1H18275B; H1H18276B; H1H18277B; H1H18278B;
H1H18279B; H1H18280B; H1H18281B; H1H18282B; H1H18283B; H1H18284B;
H1H18285B; H1H18286B; H1H18287B; H1H18288B; H1H18289B; H1H18290B;
H1H18291B; H1H18292B; H1H18293B; H1H18294B; H1H18295B; H1H18297B;
H1H18298B; H1H18299B; H1H18300B; H1H18301B; H1H18302B; H1H18303B;
H1H18304B; H1H18305B; H1H18306B; H1H18307B; H1H18308B; H1H18309B;

H1N18310B; H1N18311B; H1N18312B; H1N18313B; H1N18314B; H1N18315B; H1N18316B; H1N18317B; H1N18318B; H1N18319B; H1N18320B; H1N18321B; H1N18322B; H1N18323B; H1N18324B; H1N18325B; H1N18326B; H1N18327B; H1N18328B; H1N18329B; H1N18330B; H1N18331B; H1N18332B; H1N18333B; H1N18334B; и H1N18335B, которые представлены в публикации международной заявки на патент № WO2016/100807. В одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительным терапевтическим средством является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, выбранные из группы, состоящей из H4sH15188P; H1N15188P; H1N15211P; H1N15177P; H4sH15211P; H1N15260P2; H1N15259P2; H1N15203P; H4sH15260P2; H4sH15231P2; H1N15237P2; H1N15208P; H1N15228P2; H1N15233P2; H1N15264P2; H1N15231P2; H1N15253P2; H1N15215P; и H1N15249P2, которые представлены в публикации международной заявки на патент № WO/2015/179535.

[00035] В одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство, которое предусматривается в комбинации с антигенсвязывающим белком к TMPRSS2, представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с белком HA группы II гриппа, таким как H1N14611N2; или антитело или его фрагмент, который содержит V_H и V_L H1N14611N2; или тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 H1N14611N2, и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 H1N14611N2.

[00036] В одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство, которое предусматривается в комбинации с антигенсвязывающим белком к TMPRSS2, представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с белком HA группы II гриппа, таким как H1N14612N2; или антитело или его фрагмент, который содержит V_H и V_L H1N14612N2; или тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 H1N14612N2, и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 H1N14612N2.

[00037] В одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство, которое предусматривается в комбинации с антигенсвязывающим белком к TMPRSS2, представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с белком HA группы I гриппа, таким как H1N11729P; или антитело или его фрагмент, который содержит V_H и V_L H1N11729P; или тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 H1N11729P, и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 H1N11729P.

[00038] В настоящем изобретении также предусматривается сосуд или инъекционное устройство, которое содержит антигенсвязывающий белок к TMPRSS2 (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029) или его композицию (*например*, фармацевтическую композицию).

[00039] В настоящем изобретении также предусматривается способ лечения или предупреждения вирусной инфекции, отличной от инфекции вируса гриппа, у нуждающегося в этом субъекта (*например*, человека), включающий введение терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка к TMPRSS2, представленного в данном документе (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029).

[00040] В настоящем изобретении также предусматривается способ лечения или предупреждения рака (*например*, рака предстательной железы, рака толстой кишки, рака легкого, рака поджелудочной железы, рака мочевыводящих путей, рака молочной железы, рака яичников, аденокарциномы предстательной железы, почечно-клеточной карциномы, колоректальной аденокарциномы, аденокарциномы легкого, плоскоклеточной карциномы легкого и/или мезотелиомы плевры) или инфекции, *например*, вирусной инфекции, *например*, инфекции, вызванной вирусом гриппа, коронавирусом, SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2, вирусом парагриппа, метапневмовирусом человека или вирусом гепатита С (HCV) у субъекта (*например*, человека), нуждающегося в этом, включающий введение терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка к TMPRSS2, представленного в данном документе (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029).

[00041] В некоторых аспектах способ включает введение антигенсвязывающего белка в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами (*например*, противовирусным лекарственным средством и/или вакциной). В одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой средство, выбранное из группы, состоящей из ремдесивира, хлорохина, лопинавира, ритонавира, рибавирина, ледипасвира, софосбувира, комбинации ледипасвира и софосбувира, осельтамивира, занамивира, рибавирина и интерферона-альфа2b, интерферона-альфа2a и антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с НА гриппа. В одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительным терапевтическим средством является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, выбранные из группы, состоящей из H1N14611N2; H1N14612N2; H1N11723P; H1N11729P; H1N11820N; H1N11829N; H1N11829N2; H2aM11829N; H2M11830N; H1N11830N2; H1N11903N; H1N14571N; H2a14571N ; H1N11704P; H1N11711P; H1N11714P; H1N11717P; H1N11724P; H1N11727P; H1N11730P2; H1N11731P2; H1N11734P2; H1N11736P2; H1N11742P2; H1N11744P2; H1N11745P2; H1N11747P2; H1N11748P2; H1N17952B; H1N17953B; H1N17954B; H1N17955B; H1N17956B; H1N17957B; H1N17958B; H1N17959B; H1N17960B; H1N17961B; H1N17962B; H1N17963B; H1N17964B; H1N17965B; H1N17966B; H1N17967B; H1N17968B; H1N17969B; H1N17970B; H1N17971B; H1N17972B; H1N17973B; H1N17974B; H1N17975B; H1N17976B; H1N17977B; H1N17978B; H1N17979B; H1N17980B; H1N17981B; H1N17982B; H1N17983B; H1N17984B; H1N17985B; H1N17986B; H1N17987B; H1N17988B; H1N17989B; H1N17990B; H1N17991B; H1N17992B; H1N17993B; H1N17994B; H1N17995B; H1N17996B; H1N17997B; H1N17998B; H1N17999B; H1N18000B; H1N18001B; H1N18002B; H1N18003B; H1N18004B; H1N18005B; H1N18006B; H1N18007B; H1N18008B; H1N18009B; H1N18010B; H1N18011B; H1N18012B; H1N18013B; H1N18014B; H1N18015B; H1N18016B; H1N18017B; H1N18018B; H1N18019B; H1N18020B; H1N18021B; H1N18022B; H1N18023B; H1N18024B; H1N18025B; H1N18026B; H1N18027B; H1N18028B; H1N18029B; H1N18030B; H1N18031B; H1N18032B; H1N18033B; H1N18034B;

H1H18035B; H1H18037B; H1H18038B; H1H18039B; H1H18040B; H1H18041B;
H1H18042B; H1H18043B; H1H18044B; H1H18045B; H1H18046B; H1H18047B;
H1H18048B; H1H18049B; H1H18051B; H1H18052B; H1H18053B; H1H18054B;
H1H18055B; H1H18056B; H1H18057B; H1H18058B; H1H18059B; H1H18060B;
H1H18061B; H1H18062B; H1H18063B; H1H18064B; H1H18065B; H1H18066B;
H1H18067B; H1H18068B; H1H18069B; H1H18070B; H1H18071B; H1H18072B;
H1H18073B; H1H18074B; H1H18075B; H1H18076B; H1H18077B; H1H18078B;
H1H18079B; H1H18080B; H1H18081B; H1H18082B; H1H18083B; H1H18084B;
H1H18085B; H1H18086B; H1H18087B; H1H18088B; H1H18089B; H1H18090B;
H1H18091B; H1H18092B; H1H18093B; H1H18094B; H1H18095B; H1H18096B;
H1H18097B; H1H18098B; H1H18099B; H1H18100B; H1H18101B; H1H18102B;
H1H18103B; H1H18104B; H1H18105B; H1H18107B; H1H18108B; H1H18109B;
H1H18110B; H1H18111B; H1H18112B; H1H18113B; H1H18114B; H1H18115B;
H1H18116B; H1H18117B; H1H18118B; H1H18119B; H1H18120B; H1H18121B;
H1H18122B; H1H18123B; H1H18124B; H1H18125B; H1H18126B; H1H18127B;
H1H18128B; H1H18129B; H1H18130B; H1H18131B; H1H18132B; H1H18133B;
H1H18134B; H1H18135B; H1H18136B; H1H18137B; H1H18138B; H1H18139B;
H1H18140B; H1H18141B; H1H18142B; H1H18143B; H1H18144B; H1H18145B;
H1H18146B; H1H18147B; H1H18148B; H1H18149B; H1H18150B; H1H18151B;
H1H18152B; H1H18153B; H1H18154B; H1H18155B; H1H18156B; H1H18157B;
H1H18158B; H1H18159B; H1H18160B; H1H18161B; H1H18162B; H1H18163B;
H1H18164B; H1H18165B; H1H18166B; H1H18167B; H1H18168B; H1H18169B;
H1H18170B; H1H18171B; H1H18172B; H1H18173B; H1H18174B; H1H18175B;
H1H18176B; H1H18177B; H1H18178B; H1H18179B; H1H18180B; H1H18181B;
H1H18182B; H1H18183B; H1H18184B; H1H18185B; H1H18186B; H1H18187B;
H1H18188B; H1H18189B; H1H18190B; H1H18191B; H1H18192B; H1H18193B;
H1H18194B; H1H18195B; H1H18196B; H1H18197B; H1H18198B; H1H18199B;
H1H18200B; H1H18201B; H1H18202B; H1H18203B; H1H18204B; H1H18205B;
H1H18206B; H1H18207B; H1H18208B; H1H18209B; H1H18210B; H1H18211B;
H1H18212B; H1H18213B; H1H18214B; H1H18216B; H1H18217B; H1H18218B;

H1H18219B; H1H18220B; H1H18221B; H1H18222B; H1H18223B; H1H18224B;
H1H18225B; H1H18226B; H1H18227B; H1H18228B; H1H18229B; H1H18230B;
H1H18231B; H1H18232B; H1H18233B; H1H18234B; H1H18235B; H1H18236B;
H1H18237B; H1H18238B; H1H18239B; H1H18240B; H1H18241B; H1H18242B;
H1H18243B; H1H18244B; H1H18245B; H1H18246B; H1H18247B; H1H18248B;
H1H18249B; H1H18250B; H1H18251B; H1H18252B; H1H18253B; H1H18254B;
H1H18255B; H1H18256B; H1H18257B; H1H18258B; H1H18259B; H1H18261B;
H1H18262B; H1H18263B; H1H18264B; H1H18265B; H1H18266B; H1H18267B;
H1H18268B; H1H18269B; H1H18270B; H1H18271B; H1H18272B; H1H18274B;
H1H18275B; H1H18276B; H1H18277B; H1H18278B; H1H18279B; H1H18280B;
H1H18281B; H1H18282B; H1H18283B; H1H18284B; H1H18285B; H1H18286B;
H1H18287B; H1H18288B; H1H18289B; H1H18290B; H1H18291B; H1H18292B;
H1H18293B; H1H18294B; H1H18295B; H1H18297B; H1H18298B; H1H18299B;
H1H18300B; H1H18301B; H1H18302B; H1H18303B; H1H18304B; H1H18305B;
H1H18306B; H1H18307B; H1H18308B; H1H18309B; H1H18310B; H1H18311B;
H1H18312B; H1H18313B; H1H18314B; H1H18315B; H1H18316B; H1H18317B;
H1H18318B; H1H18319B; H1H18320B; H1H18321B; H1H18322B; H1H18323B;
H1H18324B; H1H18325B; H1H18326B; H1H18327B; H1H18328B; H1H18329B;
H1H18330B; H1H18331B; H1H18332B; H1H18333B; H1H18334B; и H1H18335B, которые
представлены в публикации международной заявки на патент № WO2016/100807. В
одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительным
терапевтическим средством является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент,
выбранные из группы, состоящей из H4sH15188P; H1H15188P; H1H15211P; H1H15177P;
H4sH15211P; H1H15260P2; H1H15259P2; H1H15203P; H4sH15260P2; H4sH15231P2;
H1H15237P2; H1H15208P; H1H15228P2; H1H15233P2; H1H15264P2; H1H15231P2;
H1H15253P2; H1H15215P; и H1H15249P2, которые представлены в публикации
международной заявки на патент № WO/2015/179535.

[00042] В настоящем изобретении также предусматривается способ для введения антигенсвязывающего белка к TMRPSS2 (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029),

представленного в данном документе, в организм субъекта (*например*, человека), включающий инъекцию антигенсвязывающего белка в организм субъекта. В некоторых аспектах антигенсвязывающий белок вводят в организм субъекта парентерально (*например*, подкожно, внутривенно или внутримышечно).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00043] Прежде чем описывать настоящие способы, следует понимать, что настоящее изобретение не ограничено конкретными способами и описанными условиями эксперимента, поскольку такие способы и условия могут изменяться. Также следует понимать, что терминология, используемая в данном документе, предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления, и не предназначена быть ограничивающей, поскольку объем настоящего изобретения будет ограничиваться только прилагаемой формулой изобретения.

[00044] Если не определено иное, то все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют такое же значение, как это обычно понимает специалист в области техники, к которой принадлежит настоящее изобретение. Хотя любые способы и материалы, сходные или эквивалентные с теми, которые описаны в данном документе, могут использоваться при практическом осуществлении или тестировании настоящего изобретения, в данном документе описаны только предпочтительные способы и материалы. Все упомянутые в данном документе публикации включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[00045] Термин «коронавирус» или «CoV» относится к любому вирусу семейства коронавирусов, включая без ограничения MERS-CoV, SARS-CoV и SARS-CoV-2. SARS-CoV-2 относится к недавно возникшему коронавирусу, вызывающему COVID-19. Первоначально данный вирус был идентифицирован в качестве причины серьезной вспышки, начавшейся в Ухане, Китай, и быстро распространившейся по всему миру. Посредством вирусного шиповидного белка он связывается с рецептором ангиотензин-превращающего фермента 2 (ACE2) клетки-хозяина человека. Шиповидный белок также связывается с TMPRSS2 и расщепляется им, что активирует шиповидный белок для мембранного слияния вируса.

[00046] Термин «CoV-S», также называемый «S-белком», относится к шиповидному белку коронавируса и может относиться к специфическим S-белкам, таким как MERS-CoV-S, SARS-CoV-S и SARS-CoV-2-S. Шиповидный белок SARS-CoV-2 представляет собой мембранный гликопротеин типа I, состоящий из 1273 аминокислот, который собирается в тримеры, образующие шипы или пепломеры на поверхности оболочки коронавирусной частицы. Данный белок обладает двумя важнейшими функциями, связыванием с рецептором хозяина и мембранным слиянием за счет N-концевых (S1) и C-концевых (S2) половин S-белка. CoV-S связывается со своим когнатным рецептором через рецептор-связывающий домен (RBD), присутствующий в субъединице S1. Примером аминокислотной последовательности полноразмерного шиповидного белка SARS-CoV-2 является аминокислотная последовательность, представленная под SEQ ID NO: 61. Термин «CoV-S» включает белковые варианты шиповидного белка CoV, выделенного из различных изолятов CoV, а также рекомбинантный шиповидный белок CoV или его фрагмент. Термин также охватывает шиповидный белок CoV или его фрагмент, связанный, например, с гистидиновой меткой, мышинным или человеческим Fc-фрагментом или сигнальной последовательностью, такой как ROR1.

[00047] Термин «коронавирусная инфекция» или «инфекция CoV», используемый в данном документе, относится к инфекции, вызванной коронавирусами, такими как MERS-CoV, SARS-CoV или SARS-CoV-2. Данный термин включает инфекцию респираторного тракта, зачастую, в нижнем отделе респираторного тракта. Симптомы включают высокую температуру, кашель, затруднение дыхания, пневмонию, гастроинтестинальные симптомы, такие как диарея, функциональная недостаточность органов (почечная недостаточность и почечная дисфункция), септический шок и летальный исход в тяжелых случаях. Инфекция, вызванная SARS-CoV-2, может вызвать коронавирусную болезнь 19 (COVID-19), которая может вызывать такие симптомы, как лихорадка, озноб, одышка, заложенность носа, кашель, утомляемость, боли в теле/мышцах и потерю вкуса и/или запаха.

[00048] Термин «гемагглютинин вируса гриппа», также называемый «НА вируса гриппа», представляет собой трехмерный гликопротеин, находящийся на поверхности вирионов гриппа, который опосредует присоединение вируса (посредством связывания НА1 с α -2,3- и α -2,6-сиаловыми кислотами) и проникновение (посредством конформационного изменения) в клетки-хозяева. НА состоит из двух структурных доменов: глобулярного головного домена, содержащего рецептор-связывающий участок (подвержен высокой частоте антигенных мутаций), и стеблевой области (более консервативная среди различных штаммов вируса гриппа). НА вируса гриппа синтезируется в качестве предшественника (НА0), который подвергается протеолитической обработке с получением двух субъединиц (НА1 и НА2), которые ассоциируются друг с другом с образованием структуры в виде стебля/глобулярной головки. Вирусный НА является наиболее варибельным антигеном на вирусе и стебель (НА2) является высококонсервативным в каждой группе.

[00049] Термин «нейраминидаза гриппа», также называемая «НА гриппа», представляет собой экзосиалидазу (ЕС 3.2.1.18), которая расщепляет α -кетозидную связь между сиаловой (N-ацетилнейраминовой) кислотой и соседним остатком сахара.

[00050] Аминокислотная последовательность полноразмерного НА гриппа является иллюстративной аминокислотной последовательностью изолята гриппа H1N1 A/California/04/2009, представленной в GenBank под номером доступа FJ966082.1. Термин «НА вируса гриппа» также включает варианты белков НА вируса гриппа, выделенные из разных изолятов гриппа, *например*, GQ149237.1, NC_002017, KM972981.1 и *т. д.* Термин «НА вируса гриппа» также включает рекомбинантный НА или его фрагмент. Термин также охватывает НА вируса гриппа или его фрагмент, соединенный, *например*, с гистидиновой меткой, Fc мыши или человека или сигнальной последовательностью.

[00051] «Антигенсвязывающий белок» к ТМРСС2 представляет собой полипептид или комплекс из более чем одного полипептида (*например*, тетрамерного антитела IgG), который специфически связывается с полипептидом ТМРСС2,

например, антителом к TMPRSS2 или его антигенсвязывающим фрагментом, независимо от того является ли оно моноспецифическим или полиспецифическим.

TMPRSS2

[00052] TMPRSS2 (трансмембранная сериновая протеаза 2) представляет собой белок, расположенный в хромосоме 21 человека, который принадлежит к семейству сериновых протеаз (трансмембранные сериновые протеазы II типа (TTSP)), которые важны для инфекционности вируса гриппа. Было показано, что TMPRSS2 опосредует расщепление HA0 вируса гриппа на HA1 и HA2.

[00053] Ген *TMPRSS2* человека кодирует предсказанный белок из 492 аминокислот, который прикрепляется к плазматической мембране. Белок превращается в свою зрелую форму посредством автокаталитического расщепления между Arg255 и Пе256. После расщепления зрелые протеазы в основном связаны с мембраной, однако часть их может высвободиться во внеклеточную среду.

[00054] В одном варианте осуществления настоящего изобретения TMPRSS2 (V160M) человека содержит аминокислотную последовательность:

MALNSGSPPAIGPYENHGYQPENPYPAQPTVVPTVYEVHQAQYYPSPVPQYAP
RVLTQASNPVVCTQPKSPSGTVCTSKTKKALCITLTLGTFLVGAALAAGLLWKFMGSK
CSNSGIECDSSGTCINPSNWCDGVSHCPGGEDENRCVRLYGPNFILQMYSSQRKSWHP
VCQDDWNENYGRAACRDMGYKNNFYSSQGIVDDSGSTSFMKLNTSAGNVDIYKKLY
HSDACSSKAVVSLRCIACGVNLNSSRQSRIVGGESALPGAWPWQVSLHVQNVHVC GG
SIITPEWIVTAAHCVEKPLNNPWHWTAFA GILRQSFMFY GAGYQVEKVISHPNYDSKT
KNNDIALMKLQKPLTFNDLVKPVCLPNPGMMLQPEQLCWISGWGATEEKGKTSEVLN
AAKVLLIETQRCNSRYVDNLITPAMICAGFLQGNVDSCQGDSGGPLVTSKNNIWWLI
GDTSWGSGCAKAYRPGVYGNVMVFTDWIYRQMRADG (SEQ ID NO: 63; метионин
160 выделен жирным шрифтом). В одном варианте осуществления настоящего
изобретения полипептид TMPRSS2 не содержит мутацию V160M. См. также номер
доступа NCBI NM_005656.3.

[00055] В одном варианте осуществления настоящего изобретения TMPRSS2 *Macaca mulatta* (S129L, N251S, I415V, R431Q, D492G) содержит аминокислотную последовательность:

MALNSGSPPGVGPYYENHGYQPENPYPAQPTVAPNVYEVHQAQYYPSPVPQYT
PRVLTHASNPVCRQPKSPSGTVCTSKTKKALCVTMTLGAVLVGAALAAAGLLWKFM
GSKCSDSGIECDSSGTCISLSNWCDGVSHCPNGEDENRCVRLYGPNFILQVYSSQRKSW
HPVCRDDWNENYARAACRDMGYKNSFYSSQGIVDNSGATSFMKLNNTSAGNVDIYKK
LYHSDACSSKAVVSLRCIACGVRSNLSRQSRIVGGQNALLGAWPWQVSLHVQNIHVC
GGSIITPEWIVTAAHCVEKPLNSPWQWTA FVGTLRQSSMFYEKGHRVEKVISHPNYDS
KTKNNDIALMKLHTPLTFNEVVKPVCLPNPGMMLEPEQHCWISGWGATQEKGKTSADV
LNAAMVPLIEPRRCNNKYVYDGLITPAMICAGFLQGTVDSCQGDSGGPLVTLKNDVW
WLIGDTSWGSQCAQANRPGVYGNVTVFTDWIYRQMRADG

(SEQ ID NO: 64). В одном варианте осуществления настоящего изобретения полипептид TMPRSS2 не содержит мутаций S129L, N251S, I415V, R431Q и/или D492G.

[00056] В одном варианте осуществления настоящего изобретения мПНК TMPRSS2 *Mus musculus* содержит нуклеотидную последовательность, представленную под номером доступа NCBI NM_015775.2.

Вирусы

[00057] В настоящем изобретении включены способы лечения или предупреждения вирусной инфекции у субъекта. Термин «вирус» включает любой вирус, инфекцию которого в организме субъекта можно вылечить или предотвратить посредством введения антитела к TMPRSS2 или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, где инфекционность вируса по меньшей мере частично зависит от TMPRSS2). В одном варианте осуществления настоящего изобретения «вирус» представляет собой любой вирус, который экспрессирует HA0, шиповидный белок (*например*, CoV-S) или другой субстрат TMPRSS2, протеолитическое расщепление которого необходимо для полной инфекционности вируса против клетки-хозяина. Термин «вирус» также включает TMPRSS2-зависимый респираторный вирус, который

представляет собой вирус, инфицирующий респираторную ткань субъекта (*например*, верхние и/или нижние дыхательные пути, трахею, бронхи, легкие) и поддающийся лечению или предупреждению посредством введения антитела к TMPRSS2. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения вирус включает вирус гриппа, коронавирус, SARS-CoV (коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома), MERS-CoV (коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (MERS)), SARS-CoV-2, вирус парагриппа, вирус Сендай (SeV), метапневмовирус человека и/или вирус гепатита С (HCV). «Вирусная инфекция» относится к инвазии и размножению вируса в организме субъекта. Настоящее изобретение включает варианты осуществления с условием, что «вирус» исключает вирус гриппа, *например*, где вирусная инфекция исключает инфекцию вируса гриппа.

[00058] Вирионы коронавируса имеют сферическую форму диаметром приблизительно 125 нм. Наиболее заметной особенностью коронавирусов являются булавовидные шипы, отходящие от поверхности вириона. Данные шипы являются отличительной чертой вириона и придают ему вид солнечной короны, что и дало название коронавирусы. Внутри оболочки вириона находится нуклеокапсид. Коронавирусы имеют спирально-симметричные нуклеокапсиды, что необычно для РНК-вирусов с положительно-полярной нитью, но гораздо более характерно для РНК-вирусов с отрицательно-полярной нитью. MERS-CoV (коронавирус ближневосточного респираторного синдрома), SARS-CoV (коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома) и SARS-CoV-2 относятся к семейству коронавирусов. Первоначальное прикрепление вириона к клетке-хозяину инициируется посредством взаимодействий между S-белком и его рецептором. Сайты рецепторсвязывающих доменов (RBD) в области S1 белка S коронавируса различаются в зависимости от вируса, при этом некоторые из них имеют RBD на С-конце S1. Взаимодействие S-белок/рецептор является главным определяющим фактором для заражения коронавирусом видов, являющимися хозяевами, а также определяет тропизм вируса к тканям. Многие виды коронавирусов используют пептидазы в качестве своих клеточных рецепторов. После связывания с рецептором вирус должен затем получить доступ к цитозолю клетки-хозяина. Обычно

это достигается посредством кислотозависимого протеолитического расщепления S-белка катепсином, TMPRRS2 или другой протеазой с последующим слиянием вирусной и клеточной мембран.

[00059] Вирусы гриппа принадлежат к семейству *Orthomyxoviridae*. Данное семейство представляет вирусы в оболочке, геном которых имеет разделенные сегменты одноцепочечной РНК с отрицательно-полярной нитью. Существует четыре рода данного семейства: типы А, В, С и тогатовирус. Деление вирусов гриппа на классы А, В и С основано на коровом белке и они дополнительно подразделяются на подтипы, определенные вирусными оболочечными гликопротеинами гемагглютинином (НА) и нейраминидазой (НА) (*например*, подтип А/Н1N1). Существует по меньшей мере 18 подтипов белка гемагглютинина («НА») гриппа (Н1-Н18 или НА1-НА18) и по меньшей мере 11 подтипов белка нейраминидазы (НА) гриппа (N1-N11 или NA1-NA11), используемых для определения подтипов гриппа. Грипп группы 1 имеет подтипы Н1, Н2, Н5, Н6, Н8, Н9, Н11, Н12, Н13, Н16, Н17 и Н18, и подтипы NA8, NA5, NA4 и NA1. Группа 2 имеет подтипы Н3, Н4, Н7, Н10, Н14 и Н15, и подтипы NA6, NA9, NA7, NA2 и NA3. Вирус гриппа А инфицирует ряд видов млекопитающих и птиц, тогда как инфекции В и С в значительной степени ограничены людьми. Восемь сегментов генома вирусов гриппа А и В слабо инкапсулированы нуклеопротеином.

[00060] В настоящее время существует два рода вируса парагриппа человека (HPIV), респировирус (HPIV-1 и HPIV-3) и рубулавирин (HPIV-2 и HPIV-4). Оба рода (парамиксовирусы) могут быть морфологически отделены от вируса гриппа.

[00061] Вирус Сендай, также известный как вирус парагриппа мышей, является типовым видом рода респировирусов, который также содержит виды вируса парагриппа типа 3 человека, вируса парагриппа типа 3 крупного рогатого скота и вируса парагриппа типа 1 человека. TMPRSS2 является активирующей протеазой для респираторных вирусов парагриппа, таких как вирусы парагриппа и вирус Сендай (SeV). См., *et al.* Abe *et al.*, J. Virol. 87(21): 11930-11935 (2013).

[00062] Метапневмовирус человека (HMPV) классифицирован в качестве первого представителя рода *Metapneumovirus* подсемейства *Pneumovirinae* семейства

Paramyxoviridae у человека. Данный вирус представляет собой вирус в оболочке с одноцепочечной РНК с отрицательно-полярной нитью. Геном РНК включает 8 генов, кодирующих 9 различных белков. НМРВ идентичен по порядку генов птичьему пневмовирусу (АМРВ), который также принадлежит к роду *Metapneumovirus*. ТМРСС2 экспрессируется в эпителии легких человека, эффективно расщепляет белок F НМРВ и способствует размножению НМРВ, и может быть вовлечен в развитие заболеваний нижних дыхательных путей у пациентов, инфицированных НМРВ. См., *et al.* Shirogane *et al.* J Virol. 82(17): 8942–8946 (2008).

[00063] Вирус гепатита С (HCV) представляет собой небольшой вирус в оболочке с одноцепочечной РНК с положительно-полярной нитью из семейства *Flaviviridae*. HCV, имеющий по меньшей мере 6 генотипов и множество подтипов, является представителем рода *hepacivirus*. ТМРСС2 может активировать инфекцию HCV после связывания и на этапе проникновения. Esumi *et al.*, Hepatology 61(2): 437–446 (2015).

Антитела к ТМРСС2 и антигенсвязывающие фрагменты

[00064] В настоящем изобретении предусмотрены антигенсвязывающие белки, такие как антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с белком ТМРСС2 или его антигенным фрагментом.

[00065] Термин «антитело», используемый в данном документе, относится к обозначению молекул иммуноглобулинов, содержащих четыре полипептидных цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенных между собой дисульфидными связями (*т. е.* «молекул полного антитела»), а также их мультимеров (*например*, IgM). Примеры антител включают, например, mAb8021, mAb8028 и mAb8029. Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи («HCVR» или «V_H») (*например*, SEQ ID NO 2) и константную область тяжелой цепи (состоящую из доменов C_{H1}, C_{H2} и C_{H3}). Каждая легкая цепь состоит из переменной области легкой цепи («LCVR» или «V_L») (*например*, SEQ ID NO 4) и константной области легкой цепи (C_L). Области V_H и V_L могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), чередующиеся с более

консервативными областями, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L содержит три CDR и четыре FR, расположенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения FR антитела (или его антигенсвязывающего фрагмента) являются идентичными человеческим последовательностям зародышевого типа или естественно или искусственно модифицированы.

[00066] Обычно переменные домены как тяжелой, так и легкой цепей иммуноглобулина содержат три гиперпеременные области, также называемые определяющими комплементарность областями (CDR), расположенные в относительно консервативных каркасных областях (FR). Как правило, от N-конца к C-концу переменные домены как легкой, так и тяжелой цепей содержат FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. В одном варианте осуществления настоящего изобретения отнесение аминокислот к каждому домену соответствует определениям из Sequences of Proteins of Immunological Interest, Kabat, *et al.*; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32:1-75; Kabat, *et al.*, (1977) J. Biol. Chem. 252:6609-6616; Chothia, *et al.*, (1987) J Mol. Biol. 196:901-917 or Chothia, *et al.*, (1989) Nature 342:878-883.

[00067] Настоящее изобретение включает моноклональные антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, *например*, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, а также моноклональные композиции, содержащие множество выделенных моноклональных антигенсвязывающих белков. Используемый в данном документе термин «моноклональное антитело» относится к популяции по сути гомогенных антител, *т. е.*, молекулы антител, составляющие популяцию, являются идентичными по аминокислотной последовательности, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. «Множество» таких моноклональных антител и фрагментов в композиции относится к концентрации идентичных (*т. е.*, как обсуждалось выше, по аминокислотной последовательности, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций,

которые могут присутствовать в незначительных количествах) антител и фрагментов, которая выше концентрации, которая обычно будет встречаться в природе, *например*, в крови организма-хозяина, такого как мышь или человек.

[00068] В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, *например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, содержит константный домен тяжелой цепи, *например*, типа IgA (*например*, IgA1 или IgA2), IgD, IgE, IgG (*например*, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4) или IgM. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок, *например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, содержит константный домен легкой цепи, *например*, типа каппа или ламбда.

[00069] Используемый в данном документе термин «человеческий» антигенсвязывающий белок, такой как антитело, включает антитела, имеющие переменные и константные области, полученные из человеческих последовательностей иммуноглобулинов зародышевого типа либо в клетке человека, либо привитые в клетку, отличную от человеческой, *например*, клетку мыши. См., *например*, US8502018, US6596541 или US5789215. Человеческие mAb по настоящему изобретению могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые человеческими последовательностями иммуноглобулинов зародышевого типа (*например*, мутации, введенные с помощью случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*), *например*, в CDR, и в частности в CDR3. Однако используемый в данном документе термин «человеческое антитело» не предназначен для включения mAb, в которых последовательности CDR, полученные из последовательностей зародышевого типа другого вида млекопитающего (*например*, мыши), привиты на последовательности FR человека. Термин включает антитела, полученные рекомбинантным путем у млекопитающего, отличного от человека, или в клетках млекопитающего, отличного от человека. Термин не подразумевает включение антител, выделенных из человека-субъекта или полученных от него. См. ниже.

[00070] Настоящее изобретение включает химерные антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, *например*, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, а также способы

их применения. Используемый в данном документе термин «химерное антитело» представляет собой антитело, имеющее переменный домен из первого антитела и константный домен из второго антитела, где первое и второе антитела принадлежат разным видам. (US4816567; and Morrison *et al.*, (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855).

[00071] Термин «рекомбинантные» антигенсвязывающие белки, такие как антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, относится к таким молекулам, созданным, экспрессируемым, выделенным или полученным с помощью технологий или способов, известных из уровня техники, таких как технология рекомбинантных ДНК, которая включает, *например*, сплайсинг ДНК и экспрессию трансгенов. Термин включает антитела, экспрессируемые у млекопитающего, не относящегося к человеку (в том числе у трансгенных млекопитающих, не относящегося к человеку, *например*, трансгенных мышей), или в клеточной системе экспрессии (*например*, клетках CHO), или они выделены из комбинаторной библиотеки рекомбинантных человеческих антител.

[00072] Рекомбинантные антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, *например*, антитела и антигенсвязывающие фрагменты, раскрытые в данном документе, также можно получать в системе экспрессии *E. coli*/T7. В этом варианте осуществления нуклеиновые кислоты, кодирующие молекулы иммуноглобулинов, представляющих собой антитела к TMPRSS2 по настоящему изобретению (*например*, mAb8021, mAb8028, or mAb8029), могут быть вставлены в плазмиду на основе pET и экспрессированы в системе *E. coli*/T7. Например, настоящее изобретение включает способы экспрессии антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, или его цепи иммуноглобулина в клетке-хозяине (*например*, бактериальной клетке-хозяине, такой как *E. coli*, например, BL21 или BL21DE3), включающие экспрессию РНК-полимеразы T7 в клетке, которая также содержит полинуклеотид, кодирующий цепь иммуноглобулина, который функционально связан с промотором T7. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения бактериальная клетка-хозяин, такая как *E. coli*, включает полинуклеотид, кодирующий ген РНК-полимеразы T7, функционально связанный с

промотором *lac*, и экспрессию полимеразы и цепи индуцируют посредством инкубации клетки-хозяина с IPTG (изопропил-бета-D-тиогалактопиранозид). См. US4952496 и US5693489 или Studier & Moffatt, Use of bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes, J. Mol. Biol. 1986 May 5;189(1): 113-30.

[00073] Существует несколько способов, с помощью которых получают рекомбинантные антитела, которые известны из уровня техники. Один пример способа рекомбинантного получения антител раскрыт в US4816567.

[00074] Трансформацию можно осуществлять с помощью любого известного способа введения полинуклеотидов в клетку-хозяина. Способы введения гетерологичных полинуклеотидов в клетки млекопитающих хорошо известны из уровня техники и включают опосредованную декстраном трансфекцию, осаждение фосфатом кальция, опосредованную полибренном трансфекцию, слияние протопластов, электропорацию, инкапсулирование полинуклеотида(полинуклеотидов) в липосомы, биолистическую инъекцию и прямую микроинъекцию ДНК в ядра. Кроме того, молекулы нуклеиновой кислоты можно вводить в клетки млекопитающих с помощью вирусных векторов. Способы трансформации клеток хорошо известны из уровня техники. См., например, патенты США №№ 4399216; 4912040; 4740461 и 4959455.

[00075] Таким образом, настоящее изобретение включает рекомбинантные способы получения антигенсвязывающего белка к TMPRSS2, такого как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению, или его цепь иммуноглобулина, включающие (i) введение одного или более полинуклеотидов (*например*, содержащих нуклеотидную последовательность под любым одним или более из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 или 59), кодирующих легкую и/или тяжелую цепи иммуноглобулина или CDR антигенсвязывающего белка, *например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029, *например*, где полинуклеотид находится в векторе, и/или встроен в хромосому клетки-хозяина, и/или функционально связан с промотором; (ii) культивирование клетки-хозяина (*например*, CHO, или *Pichia*, или *Pichia pastoris*) в условиях, благоприятных для экспрессии полинуклеотида, и (iii) необязательно выделение антигенсвязывающего

белка (*например*, антитела или фрагмента) или цепи из клетки-хозяина или среды, в которой клетку-хозяина выращивают. При получении антигенсвязывающего белка (*например*, антитела или антигенсвязывающего фрагмента), содержащего более чем одну цепь иммуноглобулина, *например*, антитела, которое содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина, совместная экспрессия цепей в одной клетке-хозяине приводит к ассоциации цепей, *например*, в клетке, или на поверхности клетки, или снаружи клетки, если такие цепи секретируются с образованием антигенсвязывающего белка (*например*, антитела или антигенсвязывающего фрагмента). Способы включают те способы, где экспрессируется только тяжелая цепь иммуноглобулина, или только легкая цепь иммуноглобулина (*например*, любые из обсуждаемых в данном документе, в том числе их зрелые фрагменты и/или переменные домены). Такие цепи применимы, например, в качестве промежуточных соединений при экспрессии антитела или антигенсвязывающего фрагмента, которые содержат такую цепь. Например, настоящее изобретение также включает антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, такие как антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие тяжелую цепь иммуноглобулина (или ее переменный домен или содержащие ее CDR), кодируемую полинуклеотидом, содержащим нуклеотидные последовательности, представленные под SEQ ID NO: 1 и легкую цепь иммуноглобулина (или ее переменный домен или содержащие ее CDR), кодируемую нуклеотидной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 9, которые являются продуктом таких способов получения и необязательно способов очистки, представленных в данном документе. Настоящее изобретение также включает антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, такие как антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие тяжелую цепь иммуноглобулина (или ее переменный домен или содержащие ее CDR), кодируемую полинуклеотидом, содержащим нуклеотидные последовательности, представленные под SEQ ID NO: 21 и легкую цепь иммуноглобулина (или ее переменный домен или содержащие ее CDR), кодируемую нуклеотидной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 29, которые являются продуктом таких способов получения и необязательно способов очистки, представленных в данном документе. Настоящее изобретение также включает

антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, такие как антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие тяжелую цепь иммуноглобулина (или ее переменный домен или содержащие ее CDR), кодируемую полинуклеотидом, содержащим нуклеотидные последовательности, представленные под SEQ ID NO: 41 и легкую цепь иммуноглобулина (или ее переменный домен или содержащие ее CDR), кодируемую нуклеотидной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 49, которые являются продуктом таких способов получения и необязательно способов очистки, представленных в данном документе. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения продукт способа представляет собой антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, который представляет собой антитело или его фрагмент, содержащий V_H , содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, и V_L , содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10; или содержащий HC, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 18, и LC, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 20. В другом варианте осуществления настоящего изобретения продукт способа представляет собой антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, который представляет собой антитело или его фрагмент, содержащий V_H , содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 22, и V_L , содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 30; или содержащий HC, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 38, и LC, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 40. В другом варианте осуществления настоящего изобретения продукт способа представляет собой антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, который представляет собой антитело или его фрагмент, содержащий V_H , содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 42, и V_L , содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 50; или содержащий HC, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 58, и LC, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 60.

[00076] Эукариотические и прокариотические клетки-хозяева, в том числе клетки млекопитающих, можно использовать в качестве хозяев для экспрессии антигенсвязывающего белка к TMPRSS2. Такие клетки-хозяева хорошо известны из уровня техники, и многие из них доступны из Американской коллекции типовых культур (ATCC). Такие клетки-хозяева включают, *среди прочего*, клетки яичника китайского хомячка (CHO), NSO, клетки SP2, клетки HeLa, клетки почки новорожденного хомячка (ВНК), клетки почки обезьяны (COS), клетки почечноклеточной карциномы человека (*например*, Нер G2), клетки A549, клетки 3T3, клетки HEK-293 и ряд других линий клеток. Клетки-хозяева млекопитающих включают клетки человека, мыши, крысы, собаки, обезьяны, свиньи, козы, крупного рогатого скота, лошади и хомячка. Другими клеточными линиями, которые могут быть использованы, являются линии клеток насекомых (*например*, *Spodoptera frugiperda* или *Trichoplusia ni*), клетки амфибий, бактериальные клетки, клетки растений и клетки грибов. Клетки грибов включают клетки дрожжей и мицелиальных грибов, включая, *например*, *Pichia pastoris*, *Pichia finlandica*, *Pichia trehalophila*, *Pichia koclamae*, *Pichia membranaefaciens*, *Pichia minuta* (*Ogataea minuta*, *Pichia lindneri*), *Pichia opuntiae*, *Pichia thermotolerans*, *Pichia salictaria*, *Pichia guercuum*, *Pichia pipperi*, *Pichia stiptis*, *Pichia methanolica*, *Pichia sp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces sp.*, *Hansenula polymorpha*, *Kluyveromyces sp.*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida albicans*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei*, *Chrysosporium lucknowense*, *Fusarium sp.*, *Fusarium gramineum*, *Fusarium venenatum*, *Physcomitrella patens* и *Neurospora crassa*. Настоящее изобретение включает выделенную клетку-хозяина (*например*, клетку CHO), содержащую антигенсвязывающий белок, такой как mAb8021, mAb8028 или mAb8029; или полинуклеотид, кодирующий такой полипептид.

[00077] Термин «специфически связывает» относится к тем антигенсвязывающим белкам (*например*, mAb), которые обладают аффинностью связывания с антигеном, таким как белок TMPRSS2, (*например*, человеческий TMPRSS2), выражаемой как K_D , составляющая по меньшей мере приблизительно 10^{-8} М (*например*, $2,81 \times 10^{-9}$ М; $9,31 \times 10^{-9}$ М; 10^{-9} М; 10^{-10} М, 10^{-11} М, or 10^{-12} М), как измерено с

помощью анализа в реальном времени с использованием биослойной интерферометрии без метки, например, при 25°C или 37°C, *например*, с помощью биосенсора Octet® HTX или с помощью поверхностного плазмонного резонанса, *например*, BIACORE™, или посредством определения аффинности в растворе с помощью способа ELISA. Настоящее изобретение включает антигенсвязывающие белки, которые специфически связываются с белком TMPRSS2.

[00078] Используемые в данном документе термины «антигенсвязывающая часть» или «антигенсвязывающий фрагмент» антитела или антигенсвязывающего белка и т. п. включают любой встречающийся в природе, получаемый ферментативным путем, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывает антиген с образованием комплекса.

Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) Fab-фрагменты; (ii) F(ab')₂-фрагменты; (iii) Fd-фрагменты; (iv) Fv-фрагменты; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) dAb-фрагменты и (vii) минимальные распознающие единицы, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (*например*, выделенная определяющая комплементарность область (CDR), такая как пептид CDR3), или пептид FR3-CDR3-FR4 с ограниченной конформационной свободой. Другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленным доменом, химерные антитела, антитела с привитой CDR, диатела, триатела, тетратела, минитела, нанотела (*например*, определенные в WO08/020079 или WO09/138519) (*например*, моновалентные нанотела, двухвалентные нанотела и т. д.) иммунофармацевтические средства на основе небольшого модульного белка (SMIP) и переменные домены IgNAR акулы также охватываются выражением «антигенсвязывающий фрагмент», используемым в данном документе. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий фрагмент содержит три или более CDR из mAb8021, mAb8028 или mAb8029 (*например*, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3; или CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3).

[00079] Антигенсвязывающий фрагмент антитела в одном варианте осуществления настоящего изобретения будет содержать по меньшей мере один переменный домен. Переменный домен может быть любого размера или аминокислотного состава и будет, как правило, содержать по меньшей мере одну CDR, которая находится в смежном положении или в одной рамке считывания с одной или более каркасными последовательностями. В антигенсвязывающих фрагментах, имеющих домен V_H , связанный с доменом V_L , домены V_H и V_L могут располагаться относительно друг друга в любом подходящем порядке. Например, переменная область может быть димерной и содержать димеры V_H - V_H , V_H - V_L или V_L - V_L . В качестве альтернативы антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен V_H или V_L .

[00080] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один переменный домен, ковалентно связанный с по меньшей мере одним константным доменом. Неограничивающие иллюстративные конфигурации переменных и константных доменов, которые могут присутствовать в антигенсвязывающем фрагменте антитела по настоящему изобретению, включают (i) V_H - C_H1 ; (ii) V_H - C_H2 ; (iii) V_H - C_H3 ; (iv) V_H - C_H1 - C_H2 ; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (vi) V_H - C_H2 - C_H3 ; (vii) V_H - C_L ; (viii) V_L - C_H1 ; (ix) V_L - C_H2 ; (x) V_L - C_H3 ; (xi) V_L - C_H1 - C_H2 ; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3 и (xiv) V_L - C_L . В любой конфигурации переменных и константных доменов, в том числе любых иллюстративных конфигурациях, представленных выше, переменные и константные домены могут быть либо непосредственно связаны друг с другом, либо могут быть связаны с помощью полноразмерной шарнирной или линкерной области или ее части. Шарнирная область может состоять из по меньшей мере 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или больше) аминокислот, которые обеспечивают образование гибкой или полугибкой связи между смежными переменными и/или константными доменами в одной молекуле полипептида. Более того, антигенсвязывающий фрагмент антитела по настоящему изобретению может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) из любой из конфигураций переменного и константного домена,

перечисленных выше, находящихся в нековалентной ассоциации друг с другом и/или с одним или более мономерными доменами V_H или V_L (*например*, с помощью дисульфидной(дисульфидных) связи(связей)).

[00081] Антигенсвязывающие белки (*например*, антитела и антигенсвязывающие фрагменты) могут быть моноспецифическими или полиспецифическими (*например*, биспецифическими). Полиспецифические антигенсвязывающие белки обсуждаются далее в данном документе.

[00082] В конкретных вариантах осуществления антитело или фрагменты антител по настоящему изобретению могут быть конъюгированы с функциональной молекулой, такой как лиганд, или терапевтической молекулой («иммуноконъюгатом»), такой противовирусное лекарственное средство, второе антитело к вирусу гриппа или любая другая терапевтическая молекула, применяемая в лечении вирусной инфекции, *например*, вирусной инфекции гриппа. См. ниже.

[00083] В настоящем изобретении также предусмотрен комплекс, содержащий антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, *например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, обсуждаемый в данном документе, в комплексе с полипептидом TMPRSS2, или его антигенным фрагментом, и/или со вторым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (*например*, выявляемым с помощью меченого вторичного антитела), который специфически связывается с антителом к TMPRSS2 или фрагментом. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антитело или фрагмент находится *in vitro* (*например*, иммобилизован на твердом субстрате) или находится в организме субъекта. В одном варианте осуществления настоящего изобретения TMPRSS2 находится *in vitro* (*например*, иммобилизован на твердом субстрате) или находится на поверхности клетки, или находится в организме субъекта. Иммобилизованные антитела к TMPRSS2 и их антигенсвязывающие фрагменты, которые ковалентно связаны с нерастворимым матричным материалом (*например*, стеклом или полисахаридом, таким как агароза или сефароза, *например*, гранула или другая ее частица), также являются частью настоящего изобретения; необязательно, где

иммобилизованное антитело находится в комплексе с TМPRSS2 или его антигенным фрагментом, или вторичным антителом, или его фрагментом.

[00084] «Выделенные» антигенсвязывающие белки, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, полипептиды, полинуклеотиды и векторы по меньшей мере частично свободны от других биологических молекул из клеток или клеточной культуры, из которых они получены. Такие биологические молекулы включают нуклеиновые кислоты, белки, другие антитела или антигенсвязывающие фрагменты, липиды, углеводы или другой материал, такой как клеточный дебрис и среда для роста. Выделенное антитело или антигенсвязывающий фрагмент дополнительно может быть по меньшей мере частично свободен от компонентов системы экспрессии, таких как биологические молекулы из клетки-хозяина или ее среды для роста. Обычно термин «выделенный» предназначен для обозначения полного отсутствия таких биологических молекул или отсутствия воды, буферов, или солей, или компонентов фармацевтического состава, который содержит антитела или фрагменты.

[00085] Термин «эпитоп» относится к антигенной детерминанте (*например*, на полипептиде TМPRSS2), которая взаимодействует со специфическим антигенсвязывающим сайтом антигенсвязывающего белка, *например*, вариабельной областью молекулы антитела, известной как паратоп. Один антиген может содержать более чем один эпитоп. Таким образом, различные антитела могут связываться с различными зонами на антигене и могут оказывать различные биологические эффекты. Термин «эпитоп» также относится к участку на антигене, в отношении которого у В-и/или Т-клеток развивается ответ. Он также относится к области антигена, с которой связывается антитело. Эпитопы можно определять как структурные или функциональные. Функциональные эпитопы, как правило, представляют собой подгруппу структурных эпитопов и содержат те остатки, которые непосредственно вносят вклад в аффинность взаимодействия. Эпитопы могут быть линейными или конформационными, т. е. состоять из нелинейных аминокислот. В определенных вариантах осуществления эпитопы могут включать детерминанты, которые представляют собой химически активные поверхностные структуры молекул, таких как

аминокислоты, боковые цепи сахаров, фосфорильные группы или сульфонильные группы, и, в определенных вариантах осуществления могут иметь специфические характеристики трехмерных структур и/или специфические характеристики заряда.

[00086] Способы определения эпитопа антигенсвязывающего белка, *например*, антитела, или фрагмента, или полипептида, включают мутационный анализ с помощью аланинового сканирования, блот-анализ пептидов (Reineke (2004) *Methods Mol. Biol.* 248: 443-63), анализ расщепления пептидов, кристаллографические исследования и анализ ЯМР. Кроме того, можно использовать такие способы, как вырезание эпитопа, экстрагирование эпитопа и химическая модификация антигенов (Tomer (2000) *Prot. Sci.* 9: 487-496). Другим способом, который можно применять для идентификации аминокислот в полипептиде, с которым взаимодействует антигенсвязывающий белок (*например*, антитело, или фрагмент, или полипептид) (*например*, коверсин), является водородно-дейтериевый обмен, выявляемый с помощью масс-спектрометрии. В общих чертах метод водородно-дейтериевого обмена включает мечение дейтерием белка, представляющего интерес, с последующим связыванием антигенсвязывающего белка, *например*, антитела или фрагмента, или полипептида, с меченым дейтерием белком. Затем комплекс белок TMPRSS2/антигенсвязывающий белок переносят в воду и способные к обмену протоны в аминокислотах, которые защищены комплексом с антителом, подвергаются обратному дейтерий-водородному обмену с более низкой скоростью, чем способные к обмену протоны в аминокислотах, которые не являются частью поверхности взаимодействия. В результате аминокислоты, которые образуют часть поверхности взаимодействия белок/антигенсвязывающий белок, могут удерживать дейтерий и, таким образом, проявлять относительно более высокие массы по сравнению с аминокислотами, не включенными в поверхность взаимодействия. После диссоциации антигенсвязывающего белка (*например*, антитела или фрагмента, или полипептида) целевой белок подвергают расщеплению протеазами и анализу посредством масс-спектрометрии, за счет чего выявляют меченные дейтерием остатки, которые соответствуют специфическим аминокислотам, с которыми взаимодействует

антигенсвязывающий белок. См., *например*, Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267: 252-259; Engen и Smith (2001) *Anal. Chem.* 73: 256A-265A.

[00087] Используемый в данном документе термин «конкурирует» относится к антигенсвязывающему белку (*например*, антителу или его антигенсвязывающему фрагменту), который связывается с антигеном (*например*, TMPRSS2) и подавляет или блокирует связывание другого антигенсвязывающего белка (*например*, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента) с антигеном. Термин также включает конкуренцию между двумя антигенсвязывающими белками, *например*, антителами, в обоих направлениях, *т. е.* первое антитело связывается и блокирует связывание второго антитела, и *наоборот*. В определенных вариантах осуществления первый антигенсвязывающий белок (*например*, антитело) и второй антигенсвязывающий белок (*например*, антитело) могут связываться с одним и тем же эпитопом. В качестве альтернативы, первый и второй антигенсвязывающие белки (*например*, антитела) могут связываться с разными, но, *например*, перекрывающимися эпитопами, где связывание одного подавляет или блокирует связывание второго антитела, *например*, посредством стерического несоответствия. Конкуренцию между антигенсвязывающими белками (*например*, антителами) можно измерить с помощью способов, известных из уровня техники, *например*, с помощью анализа в реальном времени с использованием биослойной интерферометрии без метки. В одном варианте осуществления настоящего изобретения конкуренцию между первым и вторым антигенсвязывающим белком к TMPRSS2 (*например*, антителом) определяют посредством измерения способности иммобилизованного первого антигенсвязывающего белка к TMPRSS2 (*например*, антитела) (первоначально не в комплексе с белком TMPRSS2) связываться с растворимым белком TMPRSS2 в комплексе со вторым антигенсвязывающим белком к TMPRSS2 (*например*, антителом). Снижение способности первого антигенсвязывающего белка к TMPRSS2 (*например*, антитела) связываться с белком TMPRSS2 в комплексе по сравнению с белком TMPRSS2 без комплекса указывает на то, что первый и второй антигенсвязывающие белки к TMPRSS2 (*например*, антитела) конкурируют. Степень конкуренции может быть выражена в процентах от снижения связывания. Такую

конкуренцию можно измерить с помощью анализа на основе интерферометрии на биологическом слое без меток в реальном времени, *например*, на биосенсоре Octet RED384 (Pall ForteBio Corp.), с помощью ELISA (твердофазного иммуноферментного анализа) или SPR (поверхностного плазмонного резонанса).

[00088] Конкуренцию за связывание между антигенсвязывающими белками к TMPRSS2 (*например*, моноклональными антителами (mAb)) можно определять с помощью анализа в реальном времени с использованием биослойной интерферометрии без метки на биосенсоре Octet RED384 (Pall ForteBio Corp.). Например, для определения конкуренции между двумя моноклональными антителами к TMPRSS2 человека, mAb к TMPRSS2 может быть сначала захвачено на наконечниках биосенсора Octet, покрытых антителом к hFc (Pall ForteBio Corp., № 18-5060), погружая наконечники в раствор mAb к TMPRSS2 человека (впоследствии именуемый «mAb1»). В качестве положительного контроля для блокирования наконечники биосенсора с захваченными антителами, затем можно пропитать известным блокирующим контрольным изотипом mAb (впоследствии именуемым «блокирующим mAb») посредством погружения в раствор с блокирующим mAb. Для определения того, конкурирует ли mAb2 с mAb1, наконечники биосенсора затем могут быть последовательно погружены в смешанный раствор полипептида TMPRSS2 человека и второго mAb к TMPRSS2 человека (впоследствии называемого «mAb2»), которые были предварительно инкубированы в течение определенного периода времени и связывание mAb1 с полипептидом TMPRSS2 может быть определено. Наконечники биосенсоров можно промывать в буфере между каждым этапом эксперимента. Мониторинг реакции связывания в реальном времени можно отслеживать в течение эксперимента и можно регистрировать ответ связывания в конце каждого этапа.

[00089] Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения конкурентный анализ проводят при 25°C и pH приблизительно 7, *например*, 7,4, *например*, в присутствии буфера, соли, поверхностно-активного вещества и неспецифического белка (*например*, бычьего сывороточного альбумина).

[00090] Обычно антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению, которые модифицированы некоторым образом, сохраняют способность специфически связываться с TMPRSS2, *например*, сохраняют по меньшей мере 10% от своей активности связывания TMPRSS2 (по сравнению с исходным антителом) при выражении этой активности на основе молей. Предпочтительно, антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению сохраняет по меньшей мере 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% или 100% или больше от аффинности связывания TMPRSS2 исходного антитела. Также предусматривается, что антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению могут содержать консервативные или неконсервативные аминокислотные замены (называемые «консервативными вариантами» или «вариантами с сохранением функции» антитела), которые по сути не изменяют их биологическую активность.

[00091] «Вариант» полипептида, такого как цепь иммуноглобулина (*например*, mAb8021 V_H, V_L, HC или LC, mAb8028 V_H, V_L, HC, или LC, или mAb8029 V_H, V_L, HC или LC) относится к полипептиду, содержащему аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 70-99,9% (*например*, 70, 72, 74, 75, 76, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5, 99,9%) идентичностью или сходством с эталонной аминокислотной последовательностью, представленной в данном документе (*например*, SEQ ID NO: 2, 10, 18, 20, 22, 30, 38, 40, 42, 50, 58 или 60); при выполнении сравнения с помощью алгоритма BLAST, где параметры алгоритма выбраны для получения наибольшего совпадения между соответствующими последовательностями по всей длине соответствующих эталонных последовательностей (*например*, порог значения ожидания: 10; длина слова: 3; максимальное количество совпадений в диапазоне запроса: 0; матрица BLOSUM 62; штрафы за пропуск: наличие 11, удлинение 1; условная композиционная корректировка оценочной матрицы).

[00092] «Вариант» полинуклеотида относится к полинуклеотиду, содержащему нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 70-99,9% (*например*, по меньшей мере приблизительно 70, 72, 74, 75, 76,

79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5 или 99,9%) идентичностью с эталонной нуклеотидной последовательностью, представленной в данном документе (*например*, SEQ ID NO: 1, 9, 17, 19, 21, 29, 37, 39, 41, 49, 57 или 59); при выполнении сравнения с помощью алгоритма BLAST, где параметры алгоритма выбраны для получения наибольшего совпадения между соответствующими последовательностями по всей длине соответствующих эталонных последовательностей (*например*, порог значения ожидания: 10; длина слова: 28; максимальное количество совпадений в диапазоне запроса: 0; показатели совпадения/несовпадения: 1, -2; штрафы за пропуск: линейные).

[00093] Антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, *например*, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению, в одном варианте осуществления настоящего изобретения содержат переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, характеризующуюся по меньшей мере 70% (*например*, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%) идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотами, представленными под SEQ ID NO: 2, 18, 22, 38, 42 или 58; и/или переменную область легкой цепи иммуноглобулина, характеризующуюся по меньшей мере 70% (*например*, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%) идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотами, представленными под SEQ ID NO: 10, 20, 30, 40, 50 или 60.

[00094] Кроме того, вариант антигенсвязывающего белка к TMPRSS2 может содержать полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая представлена в данном документе, за исключением одной или более (*например*, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10) мутаций, таких как, например, миссенс-мутации (*например*, консервативные замены), нонсенс-мутации, делеции или вставки. Например, настоящее изобретение включает антигенсвязывающие белки, которые содержат вариант легкой цепи иммуноглобулина, содержащий аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 20, 30, 40, 50 или 60, но имеющую одну или более из таких мутаций, и/или вариант тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащий аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 22, 38, 42 или 58, но имеющую одну или более из таких мутаций. В одном варианте осуществления

настоящего изобретения вариант антигенсвязывающего белка к TMPRSS2 содержит вариант легкой цепи иммуноглобулина, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, где одна или более (*например*, 1, или 2, или 3) из таких CDR имеют одну или более из таких мутаций (*например*, консервативных замен), и/или вариант тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, где одна или более (*например*, 1, или 2, или 3) из таких CDR имеют одну или более из таких мутаций (*например*, консервативных замен).

[00095] В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены варианты антигенсвязывающих белков к TMPRSS2, *например*, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие один или более вариантов CDR (*например*, любой один или более из CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2, и/или CDR-H3), которые представлены в данном документе с по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 99,9% идентичности последовательности или сходства с, *например*, SEQ ID NO: 4, 6, 8, 12, 14, и/или 16; или 24, 26, 28, 32, 34 и/или 36; или 44, 46, 48, 52, 54 и/или 56.

[00096] Варианты осуществления настоящего изобретения также включают варианты антигенсвязывающих белков, *например*, антитела к TMPRSS2 и их антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат V_H и V_L иммуноглобулина; или HC и LC, которые содержат аминокислотную последовательность, характеризующуюся 70% или большей (*например*, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% или 99%) общей идентичностью аминокислотной последовательности или сходством с аминокислотными последовательностями соответствующих V_H , V_L , HC или LC, конкретно представленных в данном документе, но где CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 таких иммуноглобулинов не являются вариантами и содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 4, 6, 8, 12, 14 и 16; или 24, 26, 28, 32, 34 и 36; или 44, 46, 48, 52, 54 и 56 соответственно. Таким образом, в таких вариантах осуществления CDR в вариантах антигенсвязывающих белков как таковых не являются вариантами.

[00097] Консервативно модифицированные варианты антител к TMPRSS2 и их антигенсвязывающих фрагментов также являются частью настоящего изобретения. Термин «консервативно модифицированный вариант» или «консервативная замена», относится к варианту, где имеется одна или более замен аминокислот в полипептиде на другие аминокислоты, обладающие сходными характеристиками (например зарядом, размером боковой цепи, гидрофобностью/гидрофильностью, конформацией остова и жесткостью и т. д.). Такие изменения зачастую могут быть осуществлены без значительного нарушения биологической активности антитела или фрагмента. Специалистам в данной области техники известно, что, как правило, одиночные аминокислотные замены в несущественных областях полипептида по сути не изменяют биологическую активность (см., например, Watson *et al.* (1987) *Molecular Biology of the Gene*, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.)). Кроме того, замены структурно или функционально сходных аминокислот с меньшей вероятностью существенно нарушат биологическую активность.

[00098] Примеры групп аминокислот, которые содержат боковые цепи со сходными химическими свойствами, включают 1) алифатические боковые цепи: глицин, аланин, валин, лейцин и изолейцин; 2) алифатические боковые цепи с гидроксильными группами: серин и треонин; 3) амид-содержащие боковые цепи: аспарагин и глутамин; 4) ароматические боковые цепи: фенилаланин, тирозин и триптофан; 5) основные боковые цепи: лизин, аргинин и гистидин; 6) кислые боковые цепи: аспартат и глутамат и 7) серосодержащие боковые цепи: цистеин и метионин. Предпочтительными группами консервативных аминокислотных замен являются валин-лейцин-изолейцин, фенилаланин-тирозин, лизин-аргинин, аланин-валин, глутамат-аспартат и аспарагин-глутамин. В качестве альтернативы консервативной заменой является любое изменение, характеризующееся положительным значением в матрице логарифмической функции правдоподобия PAM250, раскрытой в Gonnet *et al.* (1992) *Science* 256: 1443-45.

[00099] Функционально-консервативные варианты антител к TMPRSS2 и их антигенсвязывающих фрагментов также являются частью настоящего изобретения. Любой из вариантов антител к TMPRSS2 и их антигенсвязывающих фрагментов (как

обсуждается в данном документе) может быть «функционально-консервативным вариантом». Такие функционально-консервативные варианты в некоторых случаях также могут быть охарактеризованы как консервативно модифицированные варианты. «Функционально-консервативные варианты», как используется в данном документе, относятся к вариантам антител к TMPRSS2 или их антигенсвязывающих фрагментов, в которых один или более аминокислотных остатков были изменены без значительного изменения одного или более функциональных свойств антитела или фрагмента. В одном варианте осуществления настоящего изобретения функционально-консервативный вариант антитела к TMPRSS2 или его антигенсвязывающего фрагмента по настоящему изобретению предусматривает вариант аминокислотной последовательности и проявляет одно или более из следующих функциональных свойств.

- Подавляет рост вируса гриппа (*например*, A/Puerto Rico/08/1934 (H1N1)) или коронавируса (*например*, SARS-CoV-2) в клетках, экспрессирующих TMPRSS2 (*например*, в клетках Calu-3);
- Не связывается в значительной степени с клетками MDCK/Tet-on, которые не экспрессируют TMPRSS2.
- Ограничивает распространение коронавирусной инфекции (*например*, SARS-CoV-2) или инфекции вируса гриппа (*например*, вирусами гриппа H1_PR34; H1_CA09; H1_Bris; H9N2 или H3N2) в клетках, *например*, Calu-3, *in vitro*; и/или
- Защищает мышь, подвергнутую генной инженерии для экспрессии человеческого белка TMPRSS2, от смерти, вызванной инфекцией вирусом гриппа (*например*, H1N1 или H3N2) или коронавирусной инфекцией (*например*, SARS-CoV-2), например, когда мышью инфицируют иной смертельной дозой вируса, необязательно в комбинации с антителом к HA или антителом к шиповидному белку.
- Защищает мышь, подвергнутую генной инженерии для экспрессии человеческого белка TMPRSS2, от потери веса, вызванной инфекцией вирусом гриппа (*например*, H1N1 или H3N2) или коронавирусной инфекцией (*например*, SARS-CoV-2), например, когда мышью инфицируют дозой вируса, которая в противном случае

вызывала бы потерю веса, необязательно в комбинации с антителом к НА или антителом к шиповидному белку.

[000100] Настоящее изобретение включает мышь, подвергнутую генной инженерии для экспрессии человеческого белка TMPRSS2, который включает антигенсвязывающий белок к TMPRSS2 (*например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент), такой как mAb8021, mAb8028 или mAb8029 в организме мыши. См. публикацию международной заявки на патент № WO2017/151453.

[000101] «Нейтрализующий» или «антагонистический» антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, *например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, относится к молекуле, которая подавляет активность TMPRSS2 в любой обнаруживаемой степени, *например*, подавляет протеазную активность TMPRSS2, например, субстрата, такого как НА; Cbz-Gly-Gly-Arg-AMC (Sigma), где Cbz представляет собой бензилоксикарбонил и AMC представляет собой 7-амино-4-метилкумарин; вирус гриппа NA0; белок коронавируса S; или предшественник TMPRSS2, который автокаталитически расщепляется между Arg255 и Ile256 и/или подавляет проникновение вируса гриппа в клетку и/или подавляет репродукцию вируса гриппа в организме субъекта.

[000102] mAb8021, mAb8028 и mAb8029 относятся к антигенсвязывающим белкам, таким как антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат тяжелую цепь или V_H (или ее вариант) и легкую цепь или V_L (или ее вариант), представленные ниже; или которые содержат V_H, которая содержит их CDR (CDR-H1 (или их вариант), CDR-H2 (или их вариант) и CDR-H3 (или их вариант)) и V_L, которая содержит ее CDR (CDR-L1 (или ее вариант), CDR-L2 (или ее вариант) и CDR-L3 (или ее вариант)), *например*, где цепи иммуноглобулина, вариабельные области и/или CDR содержат конкретные аминокислотные последовательности, описанные ниже.

[000103] В одном варианте осуществления настоящего изобретения mAb8028 относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2 или 18; и CDR-L1, CDR-L2 и

CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10 или 20.

[000104] В одном варианте осуществления настоящего изобретения mAb8021 относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 22 или 38; и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 30 или 40.

[000105] В одном варианте осуществления настоящего изобретения mAb8029 относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 42 или 58; и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 50 или 60.

[000106] В одном варианте осуществления настоящего изобретения mAb8028 относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему V_H , которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2; и V_L , которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10.

[000107] В одном варианте осуществления настоящего изобретения mAb8021 относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему V_H , которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 22; и V_L , которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 30.

[000108] В одном варианте осуществления настоящего изобретения mAb8029 относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему V_H , которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID

NO: 42; и V_L, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 50.

[000109] В одном варианте осуществления настоящего изобретения mAb8028 относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, содержащему тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 18; и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 20.

[000110] В одном варианте осуществления настоящего изобретения mAb8021 относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, содержащему тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 38; и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 40.

[000111] В одном варианте осуществления настоящего изобретения mAb8029 относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, содержащему тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 58; и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 60.

[000112] Описанные в данном документе антитела также включают варианты осуществления, где V_H слит с IgG4 дикого типа (*например*, где остаток 108 представляет собой S) или с вариантами IgG4 (*например*, где остаток 108 представляет собой P).

[000113] Антитела и антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению содержат цепи иммуноглобулина, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в данном документе, а также

клеточные и посттрансляционные модификации *in vitro* антитела. Например, настоящее изобретение включает антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с TMPRSS2, содержащие аминокислотные последовательности тяжелой и/или легкой цепи, представленные в данном документе (*например*, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и/или CDR-L3), а также

антитела и фрагменты, где один или более аминокислотных остатков гликозилированы, один или более остатков Asn дезамидированы, один или более остатков (*например*, Met, Trp и/или His) окислены, N-концевой Gln представляет собой пироглутамат (pGluE), и/или C-концевой лизин отсутствует.

Введение антител

[000114] В настоящем изобретении предусмотрены способы введения антигенсвязывающего белка к TMPRSS2 по настоящему изобретению, *например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029, включающие введение антигенсвязывающего белка в организм субъекта (*например*, человека). Например, способ включает прокалывание тела субъекта иглой шприца и введение путем инъекции антигенсвязывающего белка в организм субъекта, *например*, в вену, артерию, опухоль, мышечную ткань или подкожную жировую ткань субъекта.

[000115] В настоящем изобретении предусмотрена емкость (*например*, пластиковый или стеклянный флакон, *например*, с крышкой или хроматографической колонкой, иглой с осевым отверстием или цилиндром шприца), содержащая антигенсвязывающий белок к TMPRSS2 по настоящему изобретению, *например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029.

[000116] В настоящем изобретении также предусмотрено устройство для инъекций, содержащее один или более антигенсвязывающих белков (*например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент), которые специфически связываются с TMPRSS2, *например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029, или фармацевтическую композицию на их основе. Устройство для инъекций может быть упаковано в набор. Устройство для инъекций представляет собой устройство, с помощью которого вводят вещество в организм субъекта парентеральным путем, *например*, внутримышечным, подкожным или внутривенным. Например, устройство для инъекций может представлять собой шприц (*например*, предварительно заполненный фармацевтической композицией, такой как автоинжектор), который, например, содержит цилиндр или корпус для удержания жидкости для инъекции (*например*, содержащей антитело, или фрагмент, или фармацевтическую композицию на их основе), иглу для прокалывания кожи и/или

кровеносных сосудов для инъекции жидкости; и поршень для выталкивания жидкости из цилиндра через отверстие иглы. В одном варианте осуществления настоящего изобретения устройство для инъекций, содержащее антигенсвязывающий белок, *например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, из комбинации по настоящему изобретению или фармацевтическую композицию на его основе, представляет собой устройство для внутривенных (IV) инъекций. Такое устройство может включать антигенсвязывающий белок или фармацевтическую композицию на его основе в канюле или троакаре/игле, которые могут быть присоединены к трубке, которая может быть присоединена к мешку или резервуару для хранения жидкости (*например*, физиологического раствора), введенной в организм субъекта через канюлю или троакар/иглу. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антитело или фрагмент, или фармацевтическая композиция на его основе могут быть введены в устройство после введения троакара и канюли в вену субъекта и удаления троакара из вставленной канюли. Устройство для IV инъекции можно, *например*, вводить в периферическую вену (*например*, в кисть или предплечье); верхнюю *полую вену* или нижнюю *полую вену*, или в пределы правого предсердия сердца (*например*, центральная IV); или в подключичную, внутреннюю яремную или бедренную вену и, *например*, продвигаясь к сердцу, пока не достигнет верхней полой вены или правого предсердия (*например*, центральной венозной линии). В одном варианте осуществления настоящего изобретения устройство для инъекций представляет собой автоинжектор; струйный инжектор или внешний инфузионный насос. Струйный инжектор использует узкую струю жидкости под высоким давлением, которая проникает через эпидермис для введения антитела или его фрагмента, или фармацевтической композиции на его основе, в тело субъекта. Внешние инфузионные насосы представляют собой медицинские устройства, которые доставляют антитело или его фрагмент, или фармацевтическую композицию на его основе, в организм субъекта в контролируемых количествах. Внешние инфузионные насосы могут иметь электрическое или механическое питание. Различные насосы работают по-разному, *например*, шприцевой насос удерживает жидкость в резервуаре шприца и подвижный поршень управляет подачей жидкости, эластомерный насос удерживает жидкость в растягиваемом баллонном резервуаре и

давление от эластичных стенок баллона управляет подачей жидкости. В перистальтическом насосе набор скользящих роликов зажимает отрезок гибкой трубки, толкая жидкость вперед. В многоканальном насосе жидкости могут подаваться из нескольких резервуаров с разной скоростью.

Получение человеческих антител

[000117] Способы получения человеческих антител у трансгенных мышей известны из уровня техники. Любые такие известные способы можно применять в контексте настоящего изобретения для создания человеческих антител, которые специфически связываются с TMPRSS2. Для получения антитела к TMPRSS2 можно использовать иммуноген, представляющий собой что-либо из следующего. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения антитела по настоящему изобретению получают от мышей, иммунизированных с помощью полноразмерного нативного TMPRSS2 или живым аттенуированным или инактивированным вирусом, или ДНК, кодирующей белок или его фрагмент. Альтернативным образом, белок TMPRSS2 или его фрагмент можно получить с использованием стандартных биохимических методик, а также модифицировать и использовать в качестве иммуногена. В одном варианте осуществления настоящего изобретения иммуноген представляет собой рекомбинантно полученный белок TMPRSS2 или его фрагмент. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения иммуноген может представлять собой полипептидную вакцину TMPRSS2. В определенных вариантах осуществления могут быть проведены одна или более бустерных инъекций. В определенных вариантах осуществления иммуноген может представлять собой рекомбинантный полипептид TMPRSS2, экспрессируемый в *E. coli* или в любых других эукариотических клетках или клетках млекопитающих, таких как клетки яичника китайского хомячка (CHO).

[000118] С применением технологии VELOCIMMUNE® (см., например, US 6596541, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE®) или любого другого известного способа получения моноклональных антител сначала могут быть выделены

высокоаффинные химерные антитела к TМPRSS2, содержащие человеческую переменную область и мышиную константную область. Технология VELOCIMMUNE® предусматривает получение трансгенной мыши, имеющей геном, содержащий человеческие переменные области тяжелых и легких цепей, функционально связанные с эндогенными локусами мышинных константных областей, за счет чего мышь в ответ на стимуляцию антигеном продуцирует антитело, содержащее человеческую переменную область и мышиную константную область. ДНК, кодирующую переменные области тяжелых и легких цепей антитела, выделяют и осуществляют функциональное связывание с ДНК, кодирующей человеческие константные области тяжелой и легкой цепей. Затем экспрессируют ДНК в клетке, способной к экспрессии полностью человеческого антитела.

[000119] Как правило, мыши VELOCIMMUNE® вводят представляющий интерес антиген, и от мышей, которые экспрессируют антитела, выделяют лимфатические клетки (такие как В-клетки). Лимфатические клетки можно подвергать слиянию с линией клеток миеломы с получением immortalized линий клеток гибридомы, и такие линии клеток гибридомы исследуют и отбирают для идентификации линий клеток гибридомы, которые продуцируют антитела, специфические к антигену, представляющему интерес. ДНК, кодирующая переменные области тяжелой цепи и легкой цепи, может быть выделена и связана с константными областями необходимых изоформ тяжелой цепи и легкой цепи. Такой белок, представляющий собой антитело, может продуцироваться в клетке, такой как клетка СНО. В качестве альтернативы, ДНК, кодирующую антигенспецифические химерные антитела или переменные домены легкой и тяжелой цепей, можно выделять непосредственно из антигенспецифических лимфоцитов.

[000120] Сначала выделяют высокоаффинные химерные антитела, имеющие человеческую переменную область и мышиную константную область. Как показано в приведенном ниже экспериментальном разделе, антитела характеризуют и отбирают в отношении требуемых характеристик, включая аффинность, селективность, эпитоп и *т.д.* Мышинные константные области заменяют на требуемую человеческую

константную область с получением полностью человеческого антитела по настоящему изобретению, например, дикого типа или модифицированные IgG1 или IgG4. Хотя отобранная константная область может варьироваться в зависимости от конкретного применения, характеристики, касающиеся высокой аффинности связывания антигена или специфичности к мишени, присущи вариабельной области.

Антитела к TMPRSS2, включающие Fc-варианты

[000121] В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения предусмотрены антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, *например*, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, содержащие Fc-домен, содержащий одну или более мутаций, которые, *например*, усиливают или ослабляют связывание антитела с FcRn-рецептором, *например*, при кислом pH по сравнению с нейтральным pH. *Например*, настоящее изобретение включает антитела к TMPRSS2, содержащие мутацию в C_H2- или C_H3-области Fc-домена, где мутация(мутации) повышает(повышают) аффинность Fc-домена к FcRn в кислой среде (*например*, в эндосоме, где pH находится в диапазоне от приблизительно 5,5 до приблизительно 6,0). Результатом таких мутаций может быть увеличение периода полужизни антитела в сыворотке крови при введении животному. Неограничивающие примеры таких модификаций Fc включают, *например*, модификацию в положении 250 (*например*, E или Q); 250 и 428 (*например*, L или F); 252 (*например*, L/Y/F/W или T), 254 (*например*, S или T) и 256 (*например*, S/R/Q/E/D или T); или модификацию в положении 428, и/или 433 (*например*, H/L/R/S/P/Q или K), и/или 434 (*например*, A, W, H, F или Y [N434A, N434W, N434H, N434F или N434Y]); или модификацию в положении 250 и/или 428; или модификацию в положении 307 или 308 (*например*, 308F, V308F) и 434. В одном варианте осуществления модификация включает модификацию 428L (*например*, M428L) и 434S (*например*, N434S); модификацию 428L, 259I (*например*, V259I) и 308F (*например*, V308F); модификацию 433K (*например*, H433K) и 434 (*например*, 434Y); модификацию 252, 254 и 256 (*например*, 252Y, 254T и 256E); модификацию 250Q и 428L (*например*, T250Q и M428L); и модификацию 307 и/или 308 (*например*, 308F или 308P). В еще одном варианте

осуществления модификация включает модификацию 265A (*например*, D265A) и/или 297A (*например*, N297A).

[000122] Например, настоящее изобретение включает антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, *например*, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, содержащие Fc-домен, содержащий одну или более пар или групп мутаций, выбранных из группы, состоящей из 250Q и 248L (*например*, T250Q и M248L); 252Y, 254T и 256E (*например*, M252Y, S254T и T256E); 428L и 434S (*например*, M428L и N434S); 257I и 311I (*например*, P257I и Q311I); 257I и 434H (*например*, P257I и N434H); 376V и 434H (*например*, D376V и N434H); 307A, 380A и 434A (*например*, T307A, E380A и N434A); а также 433K и 434F (*например*, H433K и N434F).

[000123] Антигенсвязывающие белки к TMPRSS, *например*, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат V_H и/или V_L, представленные в данном документе, содержащие любые возможные комбинации вышеупомянутых мутаций Fc-домена, охватываются объемом настоящего изобретения.

[000124] Настоящее изобретение также включает антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, содержащие V_H, представленную в данном документе, и химерную константную область тяжелой цепи (C_H), где химерная область C_H содержит сегменты, полученные из областей C_H более чем одного изотипа иммуноглобулина. Например, антитела по настоящему изобретению могут содержать химерную область C_H, содержащую часть домена C_{H2} или весь этот домен, полученный из молекулы человеческого IgG1, человеческого IgG2 или человеческого IgG4, в комбинации с частью домена C_{H3} или всем этим доменом, полученным из молекулы человеческого IgG1, человеческого IgG2 или человеческого IgG4. В соответствии с определенными вариантами осуществления антитела по настоящему изобретению содержат химерную область C_H, содержащую химерную шарнирную область. Например, химерный шарнир может содержать «верхнюю шарнирную» аминокислотную последовательность (аминокислотные остатки положений 216–227 согласно нумерации EU), полученную из шарнирной области IgG1 человека, IgG2 человека или IgG4 человека, в комбинации с «нижней шарнирной»

последовательностью (аминокислотные остатки положений 228–236 согласно нумерации EU), полученной из шарнирной области IgG1 человека, IgG2 человека или IgG4 человека. В соответствии с определенными вариантами осуществления химерная шарнирная область содержит аминокислотные остатки, полученные из верхней шарнирной последовательности IgG1 человека или IgG4 человека, и аминокислотные остатки, полученные из нижней шарнирной последовательности IgG2 человека. Антитело, содержащее химерную область C_H, описанную в данном документе, может в определенных вариантах осуществления проявлять эффекторные функции модифицированного Fc без неблагоприятного воздействия на терапевтические или фармакокинетические свойства антитела. (См., например, WO2014/022540).

Иммуноконъюгаты

[000125] Настоящее антитело охватывает антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, например, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, конъюгированные с другим фрагментом, например, терапевтическим фрагментом («иммуноконъюгатом»), таким как анатоксин или противовирусным лекарственным средством для лечения инфекции, вызванной вирусом гриппа. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антитело к TMPRSS2 конъюгировано с любым из дополнительных терапевтических средств, представленных в данном документе. Используемый в данном документе термин «иммуноконъюгат» относится к антигенсвязывающему белку, например, антителу или антигенсвязывающему фрагменту, который химически или биологически связан с радиоактивным веществом, цитокином, интерфероном, целевым фрагментом или фрагментом-репортером, ферментом, пептидом или белком, или терапевтическим средством. Данный антигенсвязывающий белок может быть связан с радиоактивным веществом, цитокином, интерфероном, целевым фрагментом или репортерным фрагментом, ферментом, пептидом или терапевтическим средством в любом месте по всей длине молекулы, которая является настолько длинной, что она способна связываться со своей мишенью (TMPRSS2). Примеры иммуноконъюгатов включают конъюгаты антитела и лекарственного средства и слитые белки антитело-токсин. В одном варианте осуществления настоящего изобретения данное средство может

представлять собой второе отличающееся антитело, которое специфически связывается с TMPRSS2. При выборе типа терапевтического фрагмента, который может быть конъюгирован с антигенсвязывающим белком к TMPRSS2 (*например*, антителом или его фрагментом) примут во внимание подлежащее лечению состояние и требующий достижения терапевтический эффект. См., *например*, Arnon *et al.*, «Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy», Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld *et al.* (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom *et al.*, «Antibodies For Drug Delivery», Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson *et al.* (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, «Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review», Monoclonal Antibodies 1984: Biological And Clinical Applications, Pinchera *et al.* (eds.), pp. 475-506 (1985); «Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy», Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin *et al.* (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985) и Thorpe *et al.*, «The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates», Immunol. Rev., 62: 119–58 (1982).

Полиспецифические антитела

[000126] Настоящее изобретение включает антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, *например*, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, а также способы их применения и способы получения таких антигенсвязывающих белков. Термин антигенсвязывающие белки «к TMPRSS2», *например*, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, включает полиспецифические (*например*, биспецифические или бипаратопные) молекулы, которые содержат по меньшей мере один первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с TMPRSS2 (*например*, антигенсвязывающим доменом из mAb8021, mAb8028 или mAb8029), и по меньшей мере один второй антигенсвязывающий домен, который связывается с другим антигеном или с эпитопом в TMPRSS2, и который отличается от первого антигенсвязывающего домена (*например*, HA вируса гриппа, такого как, антигенсвязывающего домена из mAb8021, mAb8028 или mAb8029). В одном варианте осуществления настоящего изобретения первый и второй эпитопы перекрываются. В

другом варианте осуществления настоящего изобретения первый и второй эпитопы не перекрываются. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения полиспецифическое антитело представляет собой биспецифическое антитело IgG (*например*, IgG1 или IgG4), которое включает первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с TMPRSS2, включая тяжелую и легкую цепи иммуноглобулина mAb8021, mAb8028, или mAb8029, и второй антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с HA вируса гриппа (содержащий различные легкие и тяжелые цепи иммуноглобулина, такие как, из mAb8021, mAb8028 или mAb8029).

[000127] mAb8021, mAb8028 и mAb8029 включают полиспецифические молекулы, *например*, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, которые включают CDR-H и CDR-L, V_H и V_L или HC и LC mAb8021, mAb8028 или mAb8029 соответственно (включая их варианты, представленные в данном документе).

[000128] В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с TMPRSS, который может быть включен в полиспецифическую молекулу, содержит

(1)

(i) последовательность переменного домена тяжелой цепи, которая содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 4; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 6, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 8, и

(ii) последовательность переменного домена легкой цепи, которая содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 12, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 14, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 16;

или

(2)

(i) последовательность вариабельного домена тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, и

(ii) последовательность вариабельного домена легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10;

или

(3)

(i) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 18, и

(ii) последовательность легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 20.

[000129] В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с TMPRSS, который может быть включен в полиспецифическую молекулу, содержит

(1)

(i) последовательность вариабельного домена тяжелой цепи, которая содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 24; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 26, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 28, и

(ii) последовательность вариабельного домена легкой цепи, которая содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 32, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 34, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 36;

или

(2)

(i) последовательность вариабельного домена тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 22, и

(ii) последовательность вариабельного домена легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 30;

или

(3)

(i) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 38, и

(ii) последовательность легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 40.

[000130] В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с TMPRSS, который может быть включен в полиспецифическую молекулу, содержит

(1)

(i) последовательность вариабельного домена тяжелой цепи, которая содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 44; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 46, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 48, и

(ii) последовательность вариабельного домена легкой цепи, которая содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 52, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 54, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 56;

или

(2)

(i) последовательность вариабельного домена тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 42, и

(ii) последовательность вариабельного домена легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 50;

или

(3)

(i) последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 58, и

(ii) последовательность легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 60.

[000131] В одном варианте осуществления настоящего изобретения полиспецифическое антитело или фрагмент включают более чем две различных специфичности связывания (*например*, триспецифическая молекула), например, содержат один или более дополнительных антигенсвязывающих доменов, которые являются такими же, как первый и/или второй антигенсвязывающие домены, или отличаются от них.

[000132] В дополнение к антигенсвязывающему сайту, который специфически связывается с TMPRSS2, в одном варианте осуществления настоящего изобретения полиспецифическая молекула содержит антигенсвязывающий сайт, который специфически связывается с шиповидным белком коронавируса, полученным из антитела, выбранного из группы, состоящей из H4sH15188P; H1H15188P; H1H15211P; H1H15177P; H4sH15211P; H1H15260P2; H1H15259P2; H1H15203P; H4sH15260P2; H4sH15231P2; H1H15237P2; H1H15208P; H1H15228P2; H1H15233P2; H1H15264P2; H1H15231P2; H1H15253P2; H1H15215P и H1H15249P2, которые представлены в публикации международной заявки на патент № WO/2015/179535.

[000133] В дополнение к антигенсвязывающему сайту, который специфически связывается с TMPRSS2, в одном варианте осуществления настоящего изобретения полиспецифическая молекула содержит антигенсвязывающий сайт, который

специфически связывается с НА вируса гриппа, полученным из антитела, выбранного из группы, состоящей из

[000134] H1H14611N2; H1H14612N2; H1H11723P; H1H11729P; H1H11820N; H1H11829N; H1H11829N2; H2aM11829N; H2M11830N; H1H11830N2; H1H11903N; H1H14571N; H2a14571N ; H1H11704P; H1H11711P; H1H11714P; H1H11717P; H1H11724P; H1H11727P; H1H11730P2; H1H11731P2; H1H11734P2; H1H11736P2; H1H11742P2; H1H11744P2; H1H11745P2; H1H11747P2; H1H11748P2; H1H17952B; H1H17953B; H1H17954B; H1H17955B; H1H17956B; H1H17957B; H1H17958B; H1H17959B; H1H17960B; H1H17961B; H1H17962B; H1H17963B; H1H17964B; H1H17965B; H1H17966B; H1H17967B; H1H17968B; H1H17969B; H1H17970B; H1H17971B; H1H17972B; H1H17973B; H1H17974B; H1H17975B; H1H17976B; H1H17977B; H1H17978B; H1H17979B; H1H17980B; H1H17981B; H1H17982B; H1H17983B; H1H17984B; H1H17985B; H1H17986B; H1H17987B; H1H17988B; H1H17989B; H1H17990B; H1H17991B; H1H17992B; H1H17993B; H1H17994B; H1H17995B; H1H17996B; H1H17997B; H1H17998B; H1H17999B; H1H18000B; H1H18001B; H1H18002B; H1H18003B; H1H18004B; H1H18005B; H1H18006B; H1H18007B; H1H18008B; H1H18009B; H1H18010B; H1H18011B; H1H18012B; H1H18013B; H1H18014B; H1H18015B; H1H18016B; H1H18017B; H1H18018B; H1H18019B; H1H18020B; H1H18021B; H1H18022B; H1H18023B; H1H18024B; H1H18025B; H1H18026B; H1H18027B; H1H18028B; H1H18029B; H1H18030B; H1H18031B; H1H18032B; H1H18033B; H1H18034B; H1H18035B; H1H18037B; H1H18038B; H1H18039B; H1H18040B; H1H18041B; H1H18042B; H1H18043B; H1H18044B; H1H18045B; H1H18046B; H1H18047B; H1H18048B; H1H18049B; H1H18051B; H1H18052B; H1H18053B; H1H18054B; H1H18055B; H1H18056B; H1H18057B; H1H18058B; H1H18059B; H1H18060B; H1H18061B; H1H18062B; H1H18063B; H1H18064B; H1H18065B; H1H18066B; H1H18067B; H1H18068B; H1H18069B; H1H18070B; H1H18071B; H1H18072B; H1H18073B; H1H18074B; H1H18075B; H1H18076B; H1H18077B; H1H18078B; H1H18079B; H1H18080B; H1H18081B; H1H18082B; H1H18083B; H1H18084B; H1H18085B; H1H18086B;

H1H18087B; H1H18088B; H1H18089B; H1H18090B; H1H18091B; H1H18092B;
H1H18093B; H1H18094B; H1H18095B; H1H18096B; H1H18097B; H1H18098B;
H1H18099B; H1H18100B; H1H18101B; H1H18102B; H1H18103B; H1H18104B;
H1H18105B; H1H18107B; H1H18108B; H1H18109B; H1H18110B; H1H18111B;
H1H18112B; H1H18113B; H1H18114B; H1H18115B; H1H18116B; H1H18117B;
H1H18118B; H1H18119B; H1H18120B; H1H18121B; H1H18122B; H1H18123B;
H1H18124B; H1H18125B; H1H18126B; H1H18127B; H1H18128B; H1H18129B;
H1H18130B; H1H18131B; H1H18132B; H1H18133B; H1H18134B; H1H18135B;
H1H18136B; H1H18137B; H1H18138B; H1H18139B; H1H18140B; H1H18141B;
H1H18142B; H1H18143B; H1H18144B; H1H18145B; H1H18146B; H1H18147B;
H1H18148B; H1H18149B; H1H18150B; H1H18151B; H1H18152B; H1H18153B;
H1H18154B; H1H18155B; H1H18156B; H1H18157B; H1H18158B; H1H18159B;
H1H18160B; H1H18161B; H1H18162B; H1H18163B; H1H18164B; H1H18165B;
H1H18166B; H1H18167B; H1H18168B; H1H18169B; H1H18170B; H1H18171B;
H1H18172B; H1H18173B; H1H18174B; H1H18175B; H1H18176B; H1H18177B;
H1H18178B; H1H18179B; H1H18180B; H1H18181B; H1H18182B; H1H18183B;
H1H18184B; H1H18185B; H1H18186B; H1H18187B; H1H18188B; H1H18189B;
H1H18190B; H1H18191B; H1H18192B; H1H18193B; H1H18194B; H1H18195B;
H1H18196B; H1H18197B; H1H18198B; H1H18199B; H1H18200B; H1H18201B;
H1H18202B; H1H18203B; H1H18204B; H1H18205B; H1H18206B; H1H18207B;
H1H18208B; H1H18209B; H1H18210B; H1H18211B; H1H18212B; H1H18213B;
H1H18214B; H1H18216B; H1H18217B; H1H18218B; H1H18219B; H1H18220B;
H1H18221B; H1H18222B; H1H18223B; H1H18224B; H1H18225B; H1H18226B;
H1H18227B; H1H18228B; H1H18229B; H1H18230B; H1H18231B; H1H18232B;
H1H18233B; H1H18234B; H1H18235B; H1H18236B; H1H18237B; H1H18238B;
H1H18239B; H1H18240B; H1H18241B; H1H18242B; H1H18243B; H1H18244B;
H1H18245B; H1H18246B; H1H18247B; H1H18248B; H1H18249B; H1H18250B;
H1H18251B; H1H18252B; H1H18253B; H1H18254B; H1H18255B; H1H18256B;
H1H18257B; H1H18258B; H1H18259B; H1H18261B; H1H18262B; H1H18263B;
H1H18264B; H1H18265B; H1H18266B; H1H18267B; H1H18268B; H1H18269B;

H1H18270B; H1H18271B; H1H18272B; H1H18274B; H1H18275B; H1H18276B;
H1H18277B; H1H18278B; H1H18279B; H1H18280B; H1H18281B; H1H18282B;
H1H18283B; H1H18284B; H1H18285B; H1H18286B; H1H18287B; H1H18288B;
H1H18289B; H1H18290B; H1H18291B; H1H18292B; H1H18293B; H1H18294B;
H1H18295B; H1H18297B; H1H18298B; H1H18299B; H1H18300B; H1H18301B;
H1H18302B; H1H18303B; H1H18304B; H1H18305B; H1H18306B; H1H18307B;
H1H18308B; H1H18309B; H1H18310B; H1H18311B; H1H18312B; H1H18313B;
H1H18314B; H1H18315B; H1H18316B; H1H18317B; H1H18318B; H1H18319B;
H1H18320B; H1H18321B; H1H18322B; H1H18323B; H1H18324B; H1H18325B;
H1H18326B; H1H18327B; H1H18328B; H1H18329B; H1H18330B; H1H18331B;
H1H18332B; H1H18333B; H1H18334B и H1H18335B; которые представлены в
публикации международной заявки на патент № WO2016/100807 (*например*, CDR-H, V_H
или ее тяжелая цепь; и CDR-L, V_L или ее легкая цепь).

[000135] В дополнение к антигенсвязывающему сайту, который специфически связывается с TMPRSS2 в одном варианте осуществления настоящего изобретения полиспецифическая молекула содержит антигенсвязывающий сайт, который специфически связывается с белком HA группы II гриппа, *например*, который содержит V_H и V_L H1H14611N2; или тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 H1H14611N2, и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 H1H14611N2.

[000136] В дополнение к антигенсвязывающему сайту, который специфически связывается с TMPRSS2 в одном варианте осуществления настоящего изобретения полиспецифическая молекула содержит антигенсвязывающий сайт, который специфически связывается с белком HA группы II гриппа, *например*, который содержит V_H и V_L H1H14612N2; или тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 H1H14612N2, и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 H1H14612N2.

[000137] В дополнение к антигенсвязывающему сайту, который специфически связывается с TMPRSS2 в одном варианте осуществления настоящего изобретения

полиспецифическая молекула содержит антигенсвязывающий сайт, который специфически связывается с белком HA группы I гриппа, *например*, который содержит V_H и V_L H1H11729P; или тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 H1H11729P, и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 H1H11729P.

[000138] В одном варианте осуществления настоящего изобретения биспецифический антигенсвязывающий фрагмент содержит первый scFv (*например*, содержащий V_H и V_L mAb8021, mAb8028 или mAb8029), обладающий специфичностью связывания в отношении первого эпитопа (*например*, TMPRSS2), и второй scFv (*например*, содержащий V_H и V_L антитела к HA гриппа), обладающий специфичностью связывания в отношении второго, отличающегося эпитопа. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения первый и второй scFv соединены с помощью линкера, *например*, пептидного линкера (*например*, GS-линкера, такого как (GGGGS)_n (SEQ ID NO: 62), где n равняется, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10). Другие биспецифические антигенсвязывающие фрагменты содержат F(ab)₂ биспецифического антитела IgG, которое содержит CDR тяжелой и легкой цепей из mAb8021 или mAb8028, или mAb8029, и другого антитела, которое связывается с другим эпитопом.

Терапевтические способы

[000139] В настоящем изобретении предусмотрены способы лечения или предупреждения вирусной инфекции или рака (*например*, рака предстательной железы) посредством введения терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка к TMPRSS2, *например*, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, mAb8021, mAb8028, или mAb8029) субъекту (*например*, человеку), нуждающемуся в таком лечении или предупреждении.

[000140] Инфекцию, вызванную коронавирусом или вирусом гриппа, можно лечить или предотвращать у субъекта посредством введения субъекту антигенсвязывающего белка к TMPRSS2 по настоящему изобретению. Вирусы гриппа классифицируются на типы А, В и С на основе их коровых белков. Подтипы вирусов гриппа А определяются гликопротеинами оболочки, обладающими либо

гемагглютининовой (НА), либо нейраминидазной (НА) активностью. Существует несколько подтипов НА (*например*, НА1, НА2, НА3, НА4, НА5, НА6, НА7, НА8, НА9, НА10, НА11, НА12, НА13, НА14, НА15, НА16, НА17 или НА18 — данные подтипы могут обозначаться как Н1, Н2, Н3 и *т. д.*) и подтипов NA (*например*, NA1, NA2, NA3, NA4, NA5, NA6, NA7, NA8, NA9, NA10 или NA11 — данные подтипы могут обозначаться как N1, N2, N3 и *т. д.*) вируса гриппа А, которые используются для обозначения подтипа гриппа А. Например, вирусы гриппа А Н1N1 и Н3N2 являются общеизвестными патогенами для человека. Люди обычно заражаются вирусами подтипов Н1, Н2 или Н3, и N1 или N2. Настоящее изобретение включает способы лечения или предупреждения инфекции, вызванной подтипом вируса гриппа, обсуждаемым в данном документе. В одном варианте осуществления настоящего изобретения полиспецифические антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с TMPRSS2, также связываются с шиповидным белком коронавируса (*например*, SARS-CoV-2, MERS-CoV или SARS-CoV) или с НА и/или с NA вируса гриппа (*например*, с подтипом вируса гриппа, представленным в данном документе).

[000141] Эффективная или терапевтически эффективная доза антигенсвязывающего белка к TMPRSS2, *например*, антитела или антигенсвязывающего фрагмента (*например*, mAb8021, или mAb8028, или mAb8029), для осуществления лечения или предупреждения вирусной инфекции относится к количеству антитела или фрагмента, достаточному для облегчения одного или более признаков и/или симптомов инфекции у проходящего лечение субъекта либо посредством индукции регрессии или устранения таких признаков и/или симптомов, либо посредством подавления прогрессирования таких признаков и/или симптомов. Количество, составляющее дозу, может варьироваться в зависимости от возраста и размера субъекта, которому будут осуществлять введение, целевого заболевания, состояний, пути введения и т. п. В одном варианте осуществления настоящего изобретения эффективная или терапевтически эффективная доза антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по настоящему изобретению для осуществления лечения или предупреждения вирусной инфекции,

например, у взрослого человека, составляет от приблизительно 0,01 до приблизительно 200 мг/кг, *например*, до приблизительно 150 мг/кг. В одном варианте осуществления настоящего изобретения дозировка составляет до приблизительно 10,8 или 11 граммов (*например*, приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 11 граммов). В зависимости от тяжести инфекции можно корректировать частоту введения и длительность лечения. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок по настоящему изобретению можно вводить в начальной дозе с последующими одной или более вторичными дозами. В определенных вариантах осуществления после начальной дозы может следовать введение второй дозы или множества последующих доз антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в количестве, которое может быть примерно тем же что и в начальной дозе, или меньше начальной дозы, где последующие введения доз разделены интервалом времени, составляющим от по меньшей мере 1 дня до 3 дней; по меньшей мере одну неделю, по меньшей мере 2 недели; по меньшей мере 3 недели; по меньшей мере 4 недели; по меньшей мере 5 недель; по меньшей мере 6 недель; по меньшей мере 7 недель; по меньшей мере 8 недель; по меньшей мере 9 недель; по меньшей мере 10 недель; по меньшей мере 12 недель или по меньшей мере 14 недель.

[000142] Используемый в данном документе термин «субъект» относится к млекопитающему (*например*, крысе, мыши, кошке, собаке, корове, овце, лошади, козе, кролику), предпочтительно человеку, *например*, нуждающемуся в предупреждении и/или лечении заболевания или нарушения, такого как вирусная инфекция или рак. Субъект может иметь инфекцию, *например*, инфекцию, вызванную вирусом гриппа, или он может быть предрасположен к развитию инфекции. Субъекты, предрасположенные к развитию инфекции, вызванной вирусом гриппа, или субъекты, которые могут находиться под повышенным риском заражения инфекцией, *например*, инфекцией вызванной коронавирусом или вирусом гриппа, являются субъектами с ослабленной иммунной системой вследствие аутоиммунного заболевания, субъектами, которые получают иммуносупрессивную терапию (*например*, после трансплантации органов), субъектами, которые поражены синдромом иммунодефицита человека (ВИЧ) или синдромом приобретенного иммунодефицита (СПИД), субъектами с определенными

формами анемии, которые истощают или разрушают белые кровяные тельца, субъектами, которые получают лучевую или химиотерапию, или субъектами, которые страдают воспалительным нарушением. Кроме того, повышенному риску подвержены лица очень молодого (*например*, 5 лет или младше) или пожилого возраста (*например*, 65 лет или старше). Кроме того, субъект может подвергаться риску заражения вирусной инфекцией ввиду близости к вспышке заболевания, *например*, субъект находится в городе с высокой плотностью населения или в непосредственной близости от субъектов, у которых имеются подтвержденные или предполагаемые инфекции, или выбора места работы, *например*, работник больницы, фармацевтический исследователь, путешественник в инфицированную область или пассажир, часто совершающий полеты.

[000143] «Лечить» или «осуществлять лечение» означает введение антигенсвязывающего белка к TMPRSS2, *например*, антитела или антигенсвязывающего фрагмента по настоящему изобретению (*например*, mAb8021, или mAb8028, или mAb8029), субъекту, имеющему один или более признаков или симптомов заболевания или инфекции, *например*, вирусной инфекции, при которых антигенсвязывающий белок эффективен при введении субъекту в эффективном или терапевтически эффективном количестве или дозе (как обсуждается в данном документе).

[000144] Настоящее изобретение также охватывает профилактическое введение антигенсвязывающего белка к TMPRSS2, *например*, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по настоящему изобретению (*например*, mAb8021, или mAb8028, или mAb8029), субъекту, который подвергается риску заражения вирусной инфекцией, в целях предупреждения такого заражения. Пассивная иммунопрофилактика на основе антител доказала свою эффективность в предупреждении заражения субъекта вирусной инфекцией. См., *например*, Berry *et al.*, Passive broad-spectrum influenza immunoprophylaxis. *Influenza Res Treat.* 2014 ;2014:267594. Epub 2014 Sep 22; and Jianqiang *et al.*, Passive immune neutralization strategies for prevention and control of influenza A infections, *Immunotherapy.* 2012 February ; 4(2): 175–186; Prabhu *et al.*, *Antivir Ther.* 2009;14(7):911-21, Prophylactic and therapeutic efficacy of a chimeric monoclonal antibody specific for H5 hemagglutinin against lethal H5N1 influenza. «Предупредить» или

«осуществлять предупреждение» означает введение антигенсвязывающего белка к TMPRSS2, *например*, антитела или антигенсвязывающего фрагмента по настоящему изобретению (*например*, mAb8021, или mAb8028, или mAb8029), субъекту, для подавления проявления заболевания или инфекции, *например*, вирусной инфекции, в организме субъекта, при которых антигенсвязывающий белок эффективен при введении субъекту в эффективном или терапевтически эффективном количестве или дозе (как обсуждается в данном документе).

[000145] В одном варианте осуществления настоящего изобретения признаком или симптомом вирусной инфекции у субъекта является выживание или пролиферация вируса в организме субъекта, *например*, как определяется с помощью анализа концентрации вируса (*например*, размножения коронавируса или вируса гриппа в курином эмбрионе, анализа шиповидного белка коронавируса или анализа гемагглютинации вируса гриппа). В данном документе обсуждаются другие признаки и симптомы вирусной инфекции.

[000146] В настоящем изобретении предусматривается способ лечения или предупреждения вирусной инфекции (*например*, вируса гриппа или коронавирусной инфекции), или индуцирования регрессии, или устранения, или подавления прогрессирования по меньшей мере одного признака или симптома вирусной инфекции, такого как

- лихорадка или чувство озноба/озноб;
- кашель;
- боль в горле;
- насморк или заложенный нос;
- чихание;
- боли в мышцах или теле;
- головная боль;
- усталость (утомляемость);

- рвота;
- диарея;
- инфекция дыхательных путей;
- дискомфорт в груди;
- одышка;
- бронхит; и/или
- пневмонии,

признак или симптом которой является вторичным по отношению к вирусной инфекции, у субъекта, нуждающегося в этом (*например*, у человека), посредством введения субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка к TMPRSS2 (*например*, mAb8021, или mAb8028, или mAb8029), например, посредством инъекции белка в организм субъекта.

[000147] Настоящее изобретение также включает способы осуществления лечения или предупреждения рака, *например*, метастатического рака, *например*, рака предстательной железы (*например*, который характеризуется экспрессией слияния TMPRSS2:ERG), рака толстой кишки, рака легких, рака поджелудочной железы, рака мочевыводящих путей, рака молочной железы, рака яичников, аденокарциномы предстательной железы, почечно-клеточной карциномы, колоректальной аденокарциномы, аденокарциномы легкого, плоскоклеточного рака легкого и/или мезотелиомы плевры, у субъекта, посредством введения терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка TMPRSS2 (*например*, mAb8021 или mAb8028 или mAb8029) субъекту, например, посредством инъекции белка в организм субъекта. В одном варианте осуществления настоящего изобретения субъекту также вводят антигенсвязывающий белок TMPRSS2 в комбинации с другим терапевтическим средством, например, противораковым терапевтическим средством. В одном варианте осуществления настоящего изобретения рак представляет собой опухоль, клетки которой экспрессируют TMPRSS2 или его вариант.

Комбинации и фармацевтические композиции

[000148] Для получения фармацевтических композиций на основе антигенсвязывающих белков к TMPRSS2, *например*, антител и их антигенсвязывающих фрагментов (*например*, mAb8021 или mAb8028, или mAb8029), антигенсвязывающий белок смешивают с фармацевтически приемлемым носителем или вспомогательным веществом. См., например, Remington's Pharmaceutical Sciences и U.S. Pharmacopoeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1984); Hardman, *et al.* (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y.; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, N.Y.; Avis, *et al.* (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. В одном варианте осуществления настоящего изобретения фармацевтическая композиция является стерильной. Такие композиции являются частью настоящего изобретения.

[000149] Объем настоящего изобретения включает высушенные, *например*, лиофилизированные композиции, содержащие антигенсвязывающий белки к TMPRSS2, *например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (*например*, mAb8021 или mAb8028, или mAb8029), или фармацевтическую композицию на его основе, которая содержит фармацевтически приемлемый носитель, но по-сути не содержит воду.

[000150] В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство, которое вводят субъекту в сочетании с антигенсвязывающим белком к TMPRSS2, *например*, антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (*например*, mAb8021 или mAb8028, или mAb8029), раскрытым в данном документе, вводят субъекту в соответствии с Physicians' Desk Reference 2003 (Thomson Healthcare; 57th edition (Nov. 1, 2002)).

[000151] Способ введения может варьировать. Пути введения включают пероральный, ректальный, трансмукозальный, кишечный, парентеральный;

внутримышечный, подкожный, внутрикожный, интрамедуллярный, интратекальный, прямой интравентрикулярный, внутривенный, интраперитонеальный, интраназальный, внутриглазной, ингаляцию, инсуффляцию, местный, кожный, трансдермальный или внутриартериальный.

[000152] В настоящем изобретении предусмотрены способы введения антигенсвязывающего белка к TМPRSS2 *например*, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, *например*, mAb8021 или mAb8028, или mAb8029, включающие введение белка в организм субъекта. Например, способ включает прокалывание тела субъекта иглой шприца и введение путем инъекции антигенсвязывающего белка в организм субъекта, *например*, в вену, артерию, опухоль, мышечную ткань или подкожную жировую ткань субъекта.

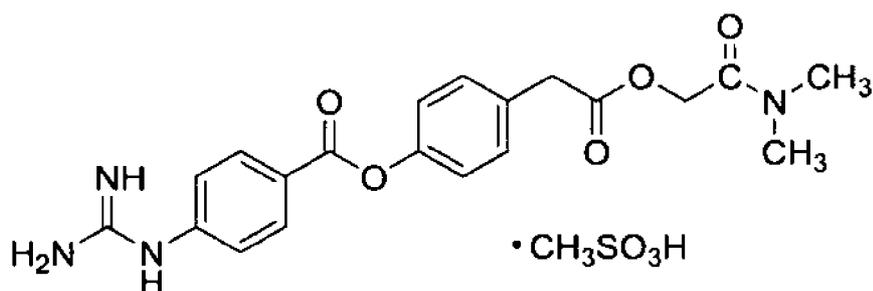
[000153] В настоящем изобретении предусмотрена емкость (*например*, пластиковый или стеклянный флакон, *например*, с крышкой или хроматографической колонкой, иглой с осевым отверстием или цилиндром шприца), содержащая любой из антигенсвязывающих белков к TМPRSS2, *например*, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты (*например*, mAb8021, mAb8028 or mAb8029), полипептиды, *например*, HC, LC, V_H или V_L mAb8021, mAb8028 или mAb8029) или полинуклеотиды, или векторы, представленные в данном документе, или фармацевтическую композицию на их основе, содержащую фармацевтически приемлемый носитель.

[000154] В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок к TМPRSS2, *например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029), находится в сочетании с одним или более дополнительными терапевтическими средствами. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой противовирусное лекарственное средство и/или вакцину. Используемый в данном документе термин «противовирусное лекарственное средство» относится к любому противомикробному лекарственному средству или терапевтическому препарату,

применяемым для лечения, предупреждения или уменьшения интенсивности вирусной инфекции у субъекта. Термин «противовирусное лекарственное средство» включает без ограничения катионный стероидный противомикробный препарат, лейпептин, аprotинин, амантадин, римантадин, осельтамивир, занамивир, рибавирин или интерферон-альфа2b. Способы осуществления лечения или предупреждения вирусной (например, коронавирусной или инфекции гриппа) инфекции у субъекта, нуждающегося в указанном лечении или предотвращении, посредством введения mAb8021, mAb8028, или mAb8029 в сочетании с дополнительным терапевтическим средством являются частью настоящего изобретения.

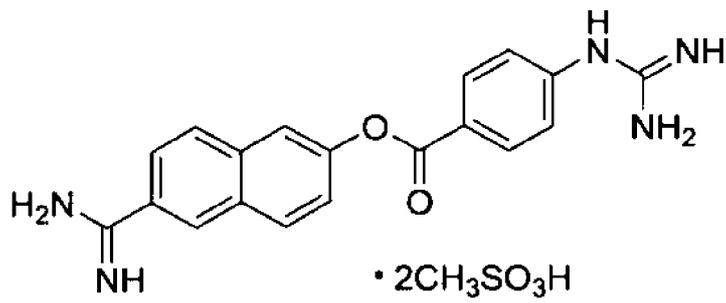
[000155] Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой вакцину, например, вакцину против коронавируса или вакцину против гриппа. В одном варианте осуществления настоящего изобретения вакцина представляет собой инактивированную/убитую вирусную вакцину, живую аттенуированную вирусную вакцину или вирусную субъединичную вакцину.

[000156] Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой

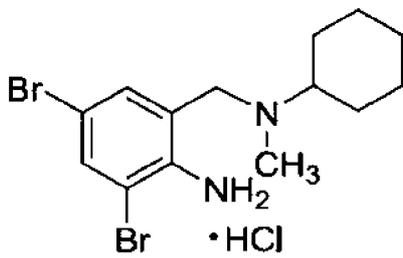


(мезилат камостата);

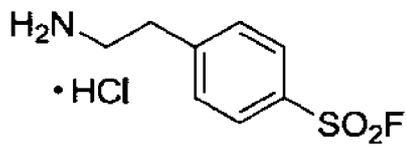
77



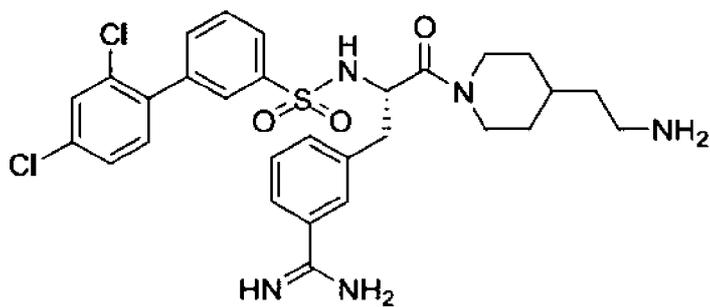
(мезилат нафамостата);

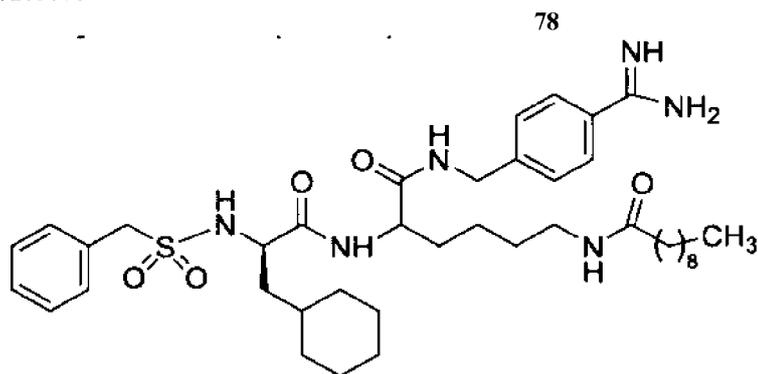


(бромгексина гидрохлорид (ВНН));

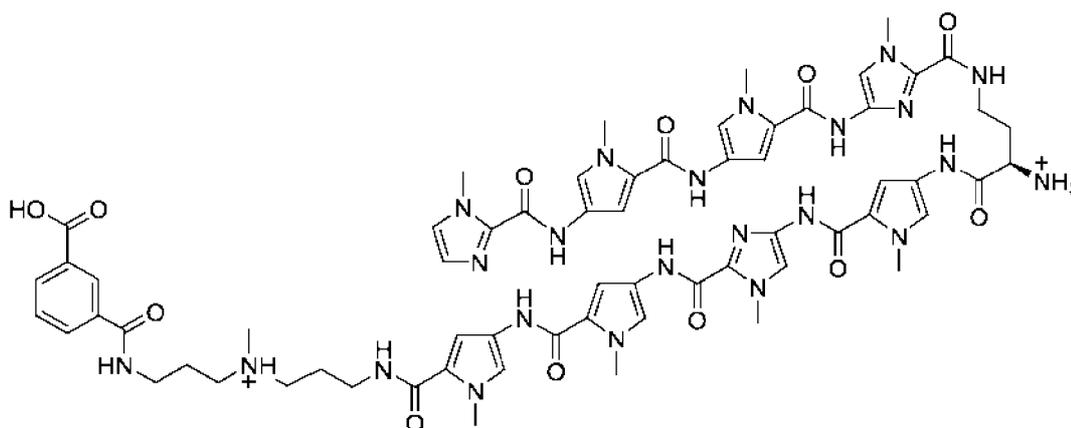


(4-(2-аминометил)бензолсульфонилфторид гидрохлорид (АЕБСF));





или



(полиамид). См. Shen *et al.* Biochimie 142: 1–10 (2017).

[000157] В одном варианте осуществления настоящего изобретения противовирусное лекарственное средство представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с коронавирусом, *например*, с CoV-S. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения антитело к CoV-S представляет собой любое из H4sH15188P; H1H15188P; H1H15211P; H1H15177P; H4sH15211P; H1H15260P2; H1H15259P2; H1H15203P; H4sH15260P2; H4sH15231P2; H1H15237P2; H1H15208P; H1H15228P2; H1H15233P2; H1H15264P2; H1H15231P2; H1H15253P2; H1H15215P и H1H15249P2, которые представлены в публикации международной заявки на патент № WO/2015/179535, или его антигенсвязывающий фрагмент, *например*, где антитело или фрагмент содержит легкую цепь иммуноглобулина, которая включает CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 (*например*, его V_L или легкую цепь); и тяжелую цепь, которая включает CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 (*например*, V_H или ее тяжелую цепь) любого из вышеуказанных антител к CoV-S.

[000158] В одном варианте осуществления настоящего изобретения противовирусное лекарственное средство представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с вирусом гриппа, *например*, с HA гриппа. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения антитело к HA представляет собой любое из H1H14611N2; H1H14612N2; H1H11723P; H1H11729P; H1H11820N; H1H11829N; H1H11829N2; H2aM11829N; H2M11830N; H1H11830N2; H1H11903N; H1H14571N; H2a14571N ; H1H11704P; H1H11711P; H1H11714P; H1H11717P; H1H11724P; H1H11727P; H1H11730P2; H1H11731P2; H1H11734P2; H1H11736P2; H1H11742P2; H1H11744P2; H1H11745P2; H1H11747P2; H1H11748P2; H1H17952B; H1H17953B; H1H17954B; H1H17955B; H1H17956B; H1H17957B; H1H17958B; H1H17959B; H1H17960B; H1H17961B; H1H17962B; H1H17963B; H1H17964B; H1H17965B; H1H17966B; H1H17967B; H1H17968B; H1H17969B; H1H17970B; H1H17971B; H1H17972B; H1H17973B; H1H17974B; H1H17975B; H1H17976B; H1H17977B; H1H17978B; H1H17979B; H1H17980B; H1H17981B; H1H17982B; H1H17983B; H1H17984B; H1H17985B; H1H17986B; H1H17987B; H1H17988B; H1H17989B; H1H17990B; H1H17991B; H1H17992B; H1H17993B; H1H17994B; H1H17995B; H1H17996B; H1H17997B; H1H17998B; H1H17999B; H1H18000B; H1H18001B; H1H18002B; H1H18003B; H1H18004B; H1H18005B; H1H18006B; H1H18007B; H1H18008B; H1H18009B; H1H18010B; H1H18011B; H1H18012B; H1H18013B; H1H18014B; H1H18015B; H1H18016B; H1H18017B; H1H18018B; H1H18019B; H1H18020B; H1H18021B; H1H18022B; H1H18023B; H1H18024B; H1H18025B; H1H18026B; H1H18027B; H1H18028B; H1H18029B; H1H18030B; H1H18031B; H1H18032B; H1H18033B; H1H18034B; H1H18035B; H1H18037B; H1H18038B; H1H18039B; H1H18040B; H1H18041B; H1H18042B; H1H18043B; H1H18044B; H1H18045B; H1H18046B; H1H18047B; H1H18048B; H1H18049B; H1H18051B; H1H18052B; H1H18053B; H1H18054B; H1H18055B; H1H18056B; H1H18057B; H1H18058B; H1H18059B; H1H18060B; H1H18061B; H1H18062B; H1H18063B; H1H18064B; H1H18065B; H1H18066B; H1H18067B; H1H18068B; H1H18069B; H1H18070B; H1H18071B; H1H18072B; H1H18073B; H1H18074B; H1H18075B; H1H18076B; H1H18077B;

H1H18078B; H1H18079B; H1H18080B; H1H18081B; H1H18082B; H1H18083B;
H1H18084B; H1H18085B; H1H18086B; H1H18087B; H1H18088B; H1H18089B;
H1H18090B; H1H18091B; H1H18092B; H1H18093B; H1H18094B; H1H18095B;
H1H18096B; H1H18097B; H1H18098B; H1H18099B; H1H18100B; H1H18101B;
H1H18102B; H1H18103B; H1H18104B; H1H18105B; H1H18107B; H1H18108B;
H1H18109B; H1H18110B; H1H18111B; H1H18112B; H1H18113B; H1H18114B;
H1H18115B; H1H18116B; H1H18117B; H1H18118B; H1H18119B; H1H18120B;
H1H18121B; H1H18122B; H1H18123B; H1H18124B; H1H18125B; H1H18126B;
H1H18127B; H1H18128B; H1H18129B; H1H18130B; H1H18131B; H1H18132B;
H1H18133B; H1H18134B; H1H18135B; H1H18136B; H1H18137B; H1H18138B;
H1H18139B; H1H18140B; H1H18141B; H1H18142B; H1H18143B; H1H18144B;
H1H18145B; H1H18146B; H1H18147B; H1H18148B; H1H18149B; H1H18150B;
H1H18151B; H1H18152B; H1H18153B; H1H18154B; H1H18155B; H1H18156B;
H1H18157B; H1H18158B; H1H18159B; H1H18160B; H1H18161B; H1H18162B;
H1H18163B; H1H18164B; H1H18165B; H1H18166B; H1H18167B; H1H18168B;
H1H18169B; H1H18170B; H1H18171B; H1H18172B; H1H18173B; H1H18174B;
H1H18175B; H1H18176B; H1H18177B; H1H18178B; H1H18179B; H1H18180B;
H1H18181B; H1H18182B; H1H18183B; H1H18184B; H1H18185B; H1H18186B;
H1H18187B; H1H18188B; H1H18189B; H1H18190B; H1H18191B; H1H18192B;
H1H18193B; H1H18194B; H1H18195B; H1H18196B; H1H18197B; H1H18198B;
H1H18199B; H1H18200B; H1H18201B; H1H18202B; H1H18203B; H1H18204B;
H1H18205B; H1H18206B; H1H18207B; H1H18208B; H1H18209B; H1H18210B;
H1H18211B; H1H18212B; H1H18213B; H1H18214B; H1H18216B; H1H18217B;
H1H18218B; H1H18219B; H1H18220B; H1H18221B; H1H18222B; H1H18223B;
H1H18224B; H1H18225B; H1H18226B; H1H18227B; H1H18228B; H1H18229B;
H1H18230B; H1H18231B; H1H18232B; H1H18233B; H1H18234B; H1H18235B;
H1H18236B; H1H18237B; H1H18238B; H1H18239B; H1H18240B; H1H18241B;
H1H18242B; H1H18243B; H1H18244B; H1H18245B; H1H18246B; H1H18247B;
H1H18248B; H1H18249B; H1H18250B; H1H18251B; H1H18252B; H1H18253B;
H1H18254B; H1H18255B; H1H18256B; H1H18257B; H1H18258B; H1H18259B;

H1H18261B; H1H18262B; H1H18263B; H1H18264B; H1H18265B; H1H18266B;
H1H18267B; H1H18268B; H1H18269B; H1H18270B; H1H18271B; H1H18272B;
H1H18274B; H1H18275B; H1H18276B; H1H18277B; H1H18278B; H1H18279B;
H1H18280B; H1H18281B; H1H18282B; H1H18283B; H1H18284B; H1H18285B;
H1H18286B; H1H18287B; H1H18288B; H1H18289B; H1H18290B; H1H18291B;
H1H18292B; H1H18293B; H1H18294B; H1H18295B; H1H18297B; H1H18298B;
H1H18299B; H1H18300B; H1H18301B; H1H18302B; H1H18303B; H1H18304B;
H1H18305B; H1H18306B; H1H18307B; H1H18308B; H1H18309B; H1H18310B;
H1H18311B; H1H18312B; H1H18313B; H1H18314B; H1H18315B; H1H18316B;
H1H18317B; H1H18318B; H1H18319B; H1H18320B; H1H18321B; H1H18322B;
H1H18323B; H1H18324B; H1H18325B; H1H18326B; H1H18327B; H1H18328B;
H1H18329B; H1H18330B; H1H18331B; H1H18332B; H1H18333B; H1H18334B или
H1H18335B, которые представлены в публикации международной заявки на патент №
WO2016/100807, или его антигенсвязывающий фрагмент, *например*, где антитело или
фрагмент содержит легкую цепь иммуноглобулина, которая включает CDR-L1, CDR-L2
и CDR-L3 (*например*, его V_L или легкую цепь); и тяжелую цепь, которая включает CDR-
H1, CDR-H2 и CDR-H3 (*например*, V_H или ее тяжелую цепь) любого из вышеуказанных
антител к HA гриппа.

[000159] В одном варианте осуществления настоящего изобретения
дополнительное терапевтическое средство представляет собой антитело или
антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с белком HA группы II гриппа,
таким как H1H14611N2; или антитело или его фрагмент, который содержит V_H и V_L
H1H14611N2; или тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и
CDR-H3 H1H14611N2, и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2
и CDR-L3 H1H14611N2. «H1H14611N2» относится к любому антителу к HA группы II,
содержащему такие последовательности.

[000160] В одном варианте осуществления настоящего изобретения
дополнительное терапевтическое средство представляет собой антитело или
антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с белком HA группы II гриппа,

таким как H1H14612N2; или антитело или его фрагмент, который содержит V_H и V_L H1H14612N2; или тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 H1H14612N2, и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 H1H14612N2. «H1H14612N2» относится к любому антителу к HA группы II, содержащему такие последовательности.

[000161] В одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с белком HA группы I гриппа, таким как H1H11729P; или антитело или его фрагмент, который содержит V_H и V_L H1H11729P; или тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 H1H11729P, и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 H1H11729P. «H1H11729P» относится к любому антителу к HA группы I, содержащему такие последовательности.

[000162] В определенном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство не представляет собой амантадин, римантадин, осельтамивир, занамивир, апротинин, лейпептин, катионный стероидный противомикробный препарат, вакцину против гриппа (*например*, убитую, живую, аттенуированную цельновиральную или субъединичную вакцину) или антитело к вирусу гриппа (*например*, антитело к гемагглютинуину).

[000163] Термин «в сочетании с» указывает на то, что компоненты, антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, *например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению, наряду с другим средством, таким как осельтамивир, могут быть составлены в одну композицию, *например*, для одновременной доставки, или составлены отдельно в двух или более композициях (*например*, набор). Каждый компонент можно вводить субъекту в момент времени, отличающийся от времени введения другого компонента; например, каждое введение можно осуществлять не одновременно (*например*, отдельно или последовательно) с интервалами в течение заданного периода времени. Кроме того,

отдельные компоненты можно вводить субъекту одним и тем же или разными путями (*например*, где антитело к TMPRSS2 или его антигенсвязывающий фрагмент).

Наборы

[000164] Дополнительно предусмотрены наборы, содержащие один или более компонентов, которые включают без ограничения антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, *например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029), в сочетании с одним или несколькими дополнительными компонентами, включая без ограничения дополнительное терапевтическое средство, обсуждаемое в данном документе. Антигенсвязывающий белок и/или дополнительное терапевтическое средство могут быть составлены в фармацевтическую композицию в виде одной композиции или отдельно в виде двух или более композиций, *например*, с фармацевтически приемлемым носителем.

[000165] В одном варианте осуществления настоящего изобретения набор включает антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, *например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029), или фармацевтическую композицию на их основе в одном контейнере (*например*, в стерильном стеклянном или пластиковом флаконе) и дополнительное терапевтическое средство в другом контейнере (*например*, в стерильном стеклянном или пластиковом флаконе).

[000166] В другом варианте осуществления набор содержит комбинацию по настоящему изобретению, включающую антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, *например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029), или фармацевтическую композицию на их основе в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими средствами, составленными вместе, необязательно, в фармацевтической композиции, в одном общем контейнере.

[000167] Если набор включает фармацевтическую композицию для парентерального введения субъекту, то набор может включать устройство (*например*, инъекционное устройство) для осуществления такого введения. Например, набор может включать одну или более игл для подкожных инъекций или другие устройства для инъекций, которые обсуждались выше, содержащие антигенсвязывающий белок к TMPRSS2, *например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029).

[000168] Набор может включать листок-вкладыш в упаковке, содержащий информацию относительно фармацевтических композиций и лекарственных форм в наборе. Обычно такая информация помогает пациентам и врачам эффективно и безопасно применять содержащиеся там фармацевтические композиции и лекарственные формы. Например, следующая информация, касающаяся комбинации по настоящему изобретению, может предоставляться во вкладыше: фармакокинетические параметры, фармакодинамические параметры, клинические исследования, параметры эффективности, показания к применению, противопоказания, предупреждения, меры предосторожности, побочные реакции, передозировка, надлежащая дозировка и введение, форма выпуска, надлежащие условия хранения, ссылки, информация о производителе/распространителе и патентная информация.

Применения антител в диагностике

[000169] Антигенсвязывающие белки к TMPRSS2, *например*, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029), можно применяться для обнаружения и/или измерения TMPRSS2 в образце. Иллюстративные анализы для TMPRSS2 могут включать, *например*, приведение образца в контакт с антигенсвязывающим белком к TMPRSS2 по настоящему изобретению, где антигенсвязывающий белок к TMPRSS2 меченый детектируемой меткой или молекулой-репортером, или используется в качестве захватывающего лиганда для избирательно выделения TMPRSS2 из образцов. Присутствие антигенсвязывающего белка к TMPRSS2 в комплексе с TMPRSS2 указывает на присутствие TMRPSS2 в образце. В качестве альтернативы, немеченое

антитело к TMPRSS2 можно применять в комбинации со вторичным антителом, которое само является меченым с обеспечением обнаружения. Выявляемая метка или молекула-репортер может представлять собой радиоактивный изотоп, такой как ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S или ^{125}I ; флуоресцентный или хемилюминесцентный фрагмент, такой как флуоресцеинизотиоцианат или родамин; или фермент, такой как щелочная фосфатаза, β -галактозидаза, пероксидаза хрена или люцифераза. Конкретные иллюстративные анализы, которые можно использовать для выявления или измерения содержания TMPRSS2 в образце, включают твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), радиоиммуноанализ (RIA) и сортировку флуоресцентно-активированных клеток (FACS). Таким образом, настоящее изобретение включает способ для обнаружения присутствия полипептида TMPRSS2 в образце, включающий приведение образца в контакт с антигенсвязывающим белком к TMPRSS2 и обнаружение присутствия TMPRSS/антигенсвязывающего белка к TMPRSS2, где присутствие комплекса указывает на присутствие TMPRSS2.

[000170] Настоящее изобретение включает клеточные способы ELISA с использованием антигенсвязывающих белков к TMPRSS2, *например*, антител и их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029), для обнаружения присутствия на TMPRSS2. В одном варианте осуществления настоящего изобретения данный способ включает такие стадии:

(i) приведение клеток, иммобилизованных на твердой поверхности (*например*, на микропланшете), в контакт с антигенсвязывающим белком к TMPRSS2 по настоящему изобретению, для тестирования на наличие TMPRSS2;

(ii) необязательное промывание смеси для удаления несвязанного антигенсвязывающего белка к TMPRSS2;

(iii) приведение антигенсвязывающего белка к TMPRSS2 в контакт с меченым вторичным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, который связывается с антигенсвязывающим белком к TMPRSS2;

(iv) необязательное промывание комплекса для удаления несвязанного антигенсвязывающего белка; и

(v) обнаружение присутствия метки на вторичном антителе или фрагменте, где обнаружение метки указывает на то, что клетки содержат TMPRSS2. Например, настоящее изобретение включает такие клеточные способы ELISA для идентификации клеток TMPRSS2⁺ в образце.

[000171] Антигенсвязывающий белок к TMPRSS2 по настоящему изобретению (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029) может применяться в процедуре вестерн-блоттинга или блоттинга иммунного белка для обнаружения присутствия TMPRSS2 или его фрагмента в образце. Такая процедура является частью настоящего изобретения и включает стадии, *например*:

(1) предоставление мембраны или другого твердого субстрата, содержащего образец для тестирования на присутствие TMPRSS2, *например*, необязательно включая этап переноса белков из образца для тестирования на присутствие TMPRSS2 (*например*, из электрофоретического разделения PAGE или SDS-PAGE белков в образце) на мембрану или другой твердый субстрат с использованием способа, известного в данной области техники (*например*, полусухого блоттинга или танк-блоттинга); и приведение мембраны или другого твердого субстрата, подлежащего тестированию на присутствие TMPRSS2 или его фрагмента, в контакт с антигенсвязывающим белком к TMPRSS2 по настоящему изобретению.

[000172] Такая мембрана может иметь форму, например, мембраны на основе нитроцеллюлозы или винила (*например*, поливинилиденфторид (PVDF)), на которую были перенесены белки для тестирования на наличие TMPRSS2 в неденатурирующем геле PAGE (электрофорез в полиакриламидном геле) или геле SDS-PAGE (электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия) (*например*, после электрофоретического разделения в геле). Перед приведением мембраны в контакт с антигенсвязывающим белком к TMPRSS2, мембрану необязательно блокируют, *например*, с помощью обезжиренного сухого молока или т.п., для связывания неспецифических сайтов связывания белка на мембране.

(2) промывание мембраны один или более раз для удаления несвязанного антигенсвязывающего белка к TMPRSS2 и других несвязанных веществ; и

(3) обнаружение связанного антигенсвязывающего белка к TMPRSS2.

[000173] Обнаружение связанного антигенсвязывающего белка указывает на то, что белок TMPRSS2 присутствует на мембране или субстрате и в образце. Обнаружение связанного антигенсвязывающего белка может осуществляться посредством связывания антигенсвязывающего белка с вторичным антителом (антителом к иммуноглобулину), которое помечено обнаруживаемой меткой, и затем обнаружением присутствия метки вторичного антитела.

[000174] Антигенсвязывающие белки к TMPRSS2 (*например*, антитела и антигенсвязывающие фрагменты (*например*, mAb8021, mAb8028 или mAb8029)), раскрытые в данном документе, также могут применяться для иммуногистохимического анализа. Такой способ является частью настоящего изобретения и включает стадии, *например*:

(1) приведение ткани в контакт с антигенсвязывающим белком к TMPRSS2 по настоящему изобретению для тестирования на наличие белка TMPRSS2; и

(2) обнаружение антигенсвязывающего белка на ткани или в ней.

[000175] Если сам антигенсвязывающий белок помечен обнаруживаемой меткой, его можно обнаружить напрямую. В качестве альтернативы антигенсвязывающий белок может быть связан с вторичным антителом, которое помечено обнаруживаемой меткой, где метка затем обнаруживается.

ПРИМЕРЫ

[000176] Следующие примеры представлены с тем, чтобы обеспечить специалистов средней квалификации в данной области техники полным раскрытием и описанием того, как осуществлять и применять способы и получать и применять композиции по настоящему изобретению, и они не предполагают ограничение объема того, что авторы настоящего изобретения рассматривают в качестве своего изобретения. Были приложены усилия для обеспечения точности по отношению к используемым

числам (например, количеству, температуре и т. п.), однако необходимо учитывать некоторые экспериментальные погрешности и отклонения. Если не указано иное, то части являются частями по весу, молекулярная масса является средней молекулярной массой, температура представлена в градусах Цельсия, комнатная температура составляет приблизительно 25°C, а давление является атмосферным или близким к атмосферному.

Пример 1. Получение человеческих антител к TMPRSS2

[000177] Человеческие антитела к TMPRSS2 получали с использованием мыши VELOCIMMUNE[®], содержащей ДНК, кодирующую переменные области тяжелой цепи и легкой каппа-цепи иммуноглобулина человека. Мышей иммунизировали с помощью векторов, экспрессирующих TMPRSS2, с последующим введением бустерной дозы TMPRSS2. Иммунный ответ антител отслеживали с помощью специфического в отношении TMPRSS2 иммуноанализа. Антитела к TMPRSS2 выделяли непосредственно из антиген-позитивных мышиных В-клеток без слияния с клетками миеломы, что описано в патенте США № 7582298, который специально включен в данный документ посредством ссылки во всей его полноте. С использованием данного способа получали полностью человеческие антитела к TMPRSS2 (*т. е.* антитела, обладающие человеческими переменными доменами и человеческими константными доменами).

[000178] Иллюстративных антител, описанные в данном документе, обозначены как mAb8028, mAb8021 и mAb8029. Биологические свойства иллюстративных антител, полученных в соответствии со способами данного примера, подробно описаны в изложенных ниже примерах.

Пример 2. Нуклеотидные и аминокислотные последовательности переменных областей тяжелой и легкой цепей

[000179] В таблице 1 представлены идентификаторы аминокислотных последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепей (HCVR и LCVR, соответственно) и CDR (HCDR-1, HCDR-2, HCDR-3, LCDR-1, LCDR-2 и LCDR-3), а также последовательности тяжелой (HC) и легкой (LC) цепей иллюстративных антител к

TMPRSS2. Соответствующие идентификаторы последовательностей нуклеиновых кислот представлены в таблице 2.

Таблица 1. Идентификаторы аминокислотных последовательностей

	ИДЕНТИФИКАТОР ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ									
	HCV R	CDR- H1	CDR- H2	CDR- H3	LCV R	CDR- L1	CDR- L2	CDR- L3	H C	L C
mAb80 28	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
mAb80 21	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40
mAb80 29	42	44	46	48	50	52	54	56	58	60

Таблица 2. Идентификаторы последовательностей нуклеиновых кислот

	ИДЕНТИФИКАТОР ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ									
	HCV R	CDR- H1	CDR- H2	CDR- H3	LCV R	CDR- L1	CDR- L2	CDR- L3	H C	L C
mAb80 28	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19
mAb80 21	21	23	25	27	29	31	33	35	37	39
mAb80 29	41	43	45	47	49	51	53	55	57	59

[000180] Антитела, описанные в данном документе, имеют полностью человеческие переменные области, однако могут иметь мышиные константные области (например, мышиный Fc IgG1 или мышиный Fc IgG2 (изотип a или b)) или человеческие константные области (например, человеческий Fc IgG1 или человеческий Fc IgG4).

Специалисту в данной области техники будет понятно, что антитело с Fc конкретного изотипа можно превращать в антитело с Fc другого изотипа (*например*, антитело с Fc из IgG1 мыши можно превращать в антитело с Fc из IgG4 человека и т. д.), но в любом случае переменные домены (в том числе CDR), которые обозначены числовыми идентификаторами, показанными в таблицах 1 и 2, останутся такими же, и при этом ожидается, что свойства связывания будут идентичными или по сути сходными независимо от природы Fc-домена.

Пример 3. Мультицикловая репликация *in vitro*

[000181] Оценивали способность вируса гриппа Influenza A A/Puerto Rico/08/1934 (H1_PR34) к репликации в клетках Calu3 после обработки mAb8021, mAb8028 или mAb8029.

Таблица 3. Используемые реагенты

Описание	Поставщик
Клетки Calu-3	ATCC
EMEM	Gibco
Заменимые аминокислоты	Invitrogen
F12	Gibco
3,5 мл 30% раствора BSA с низким содержанием IgG	Sigma
Pen/Strep	Gibco
раствор BSA с низким содержанием IgG	Sigma
PBS	Life Technologies
Фетальная бычья сыворотка	Life Technologies
Influenza A A/Puerto Rico/08/1934 (H1_PR34)	ATCC
NP антитела к гриппу (мыши)	Millipore

[000182] Клетки Calu-3 высевали по 40000 клеток/лунка в 96-луночном планшете в среде DMEM:F12 с 5% FBS. На следующий день вирус гриппа разводили до значения MOI 0,01 и антитела разводили до 25 мкг/мл. Антитело к HA предварительно инкубировали с вирусом гриппа в течение одного часа при 37°C в отдельном планшете. После периода предварительного инкубирования неинфицированные клетки Calu-3 обрабатывали либо смесью антитело к HA/вирус, либо одним из антител к TMPRSS2, mAb8021, mAb8028 или mAb8029 в комбинации с вирусом гриппа. Затем обработанные клетки Calu-3 инкубировали в течение одного часа. После заражения, длительностью один час, клетки трижды промывали PBS и в каждую лунку вместе с новой средой добавляли свежее антитело (антитело к HA или антитело к TMPRSS2, соответствующее предыдущему антителу). Дополнительные антитела добавляли через 24 и 48 часов после заражения. Через 72 часа после заражения клетки окрашивали антителами к NP и визуализировали на универсальном анализаторе CTL-ImmunoSpot® S6 (Cellular Technology Limited, Cleveland, OH).

[000183] Calu-3 представляет собой иммортализованную линию эпителиальных клеток дыхательных путей человека, которая, как было показано, обеспечивает мультицикловую репликацию вируса гриппа человека в отсутствие экзогенного трипсина (Zeng et al., Highly pathogenic avian influenza H5N1 viruses elicit an attenuated type I interferon response in polarized human bronchial epithelial cells. *J Virol.* 81:12439–12449 (2007)). Кроме того, клетки Calu-3 продемонстрировали экспрессию TMPRSS2, что является важным для тестирования антител к TMPRSS2. Хотя данные антитела исследовали на их способность предотвращать мультицикловую репликацию вируса гриппа PR8, квалифицированный специалист поймет, что TMPRSS2 также участвует в коронавирусной инфекции и, следовательно, блокирование TMPRSS2 будет иметь аналогичный эффект на коронавирусную инфекцию. Более того, блокирование TMPRSS2 может быть полезным, поскольку может способствовать подавлению широкой вирусной инфекционности, чем блокирование определенного вирусного белка. В качестве позитивного контроля использовали нейтрализующее антитело к HA для подавления инфекционности. В качестве отрицательного контроля использовали

антитело изотипического контроля. Визуализацию инфицированных клеток проводили на универсальном анализаторе CTL-ImmunoSpot® S6 (Cellular Technology Limited, Cleveland, OH). mAb к TMPRSS2 демонстрировали подавление инфекции вируса гриппа, которое наблюдалось посредством изучения различий в количестве инфицированных клеток с клетками, обработанными mAb к TMPRSS2, и с клетками, обработанными изотипическим контролем. Относительная степень подавления, опосредованного mAb, репликации вируса представлена в таблице 4 ниже.

Таблица 4. Подавление вирусов с помощью mAb8021, mAb8028 и mAb8029

mAb	Мишень mAb	Уровень подавления вируса
mAb8021	TMPRSS2	+++
mAb8028	TMPRSS2	+++
mAb8029	TMPRSS2	+++
Позитивный контроль	HA вируса гриппа	++++
Отрицательный контроль	Изотипический контроль	-

Уровень подавления вируса относительно инфицированного, необработанного контроля. Нет подавления (-), нет вирусоположительных клеток (++++), несколько вирусоположительных клеток (+++).

Пример 3. Кинетика связывания антител к TMPRSS2

[000184] Равновесные константы диссоциации (K_D) для TMPRSS2, связывающегося с различными моноклональными антителами (mAb) к TMPRSS2, определяли с помощью биосенсора для поверхностного плазмонного резонанса в реальном времени с применением прибора Biacore T200. Все исследования связывания проводили в подвижном буфере, состоящем из 10 мМ HEPES, 150 мМ NaCl и 0,05% об./об. поверхностно-активного вещества Tween-20, pH 7,4 (HBS-P) при 25°C и 37°C. Поверхность сенсорного чипа Biacore CM5 сначала дериватизировали путем связывания

амин с Fc mAb человека (REGN2567) для захвата различных mAb к TMPRSS2, экспрессируемых с С-концевой меткой тус-тус-гексагистидина (ММН). Различные концентрации (100–3,7 нМ, 3-кратное серийное разведение) эктодомена TMPRSS2-тус-тус-His человека (hTMPRSS2-ММН), TMPRSS2-ММН яванской макаки (mfTMPRSS2-ММН), TMPRSS2-ММН крысы (rTMPRSS2-ММН), или мыши TMPRSS2-ММН (mTMPRSS2-ММН), приготовленные в подвижном буфере HBS-P, инъецировали на поверхность с захваченными mAb к TMPRSS2 в течение 150 с при скорости потока 30 мкл/мин и наблюдали их диссоциацию в подвижном буфере HBS-P в течение 10 минут. В конце каждого цикла поверхность с захваченными mAb к TMPRSS2 регенерировали с помощью 12-секундной инъекции 20 мМ фосфорной кислоты.

[000185] Скорость ассоциации (k_a) и скорость диссоциации (k_d) определяли путем аппроксимации сенсограмм связывания в режиме реального времени по модели связывания 1:1 с ограничением массопереноса с применением программного обеспечения для подбора кривой Scrubber 2.0с. Равновесную константу диссоциации связывания (K_D) и значения периодов полудиссоциации ($t^{1/2}$) рассчитывали исходя из кинетических скоростей следующим образом:

$$K_D (M) = \frac{k_d}{k_a}, \text{ и } t^{1/2} (\text{мин.}) = \frac{\ln(2)}{60 \cdot k_d}$$

[000186] Параметры кинетики связывания для связывания TMPRSS2 с различными mAb к TMPRSS2 по настоящему изобретению при 25°C и 37°C показаны в таблицах 5-12. Как mAb8021, так и mAb8029 демонстрировали сильное связывание с TMPRSS2, и mAb8021, в частности, демонстрировало предпочтительное связывание с hTMPRSS2 и mfTMPRSS2 по сравнению с rTMPRSS2 и mTMPRSS2.

Таблица 5. Кинетика связывания mAb к TMPRSS2, связывающихся с hTMPRSS2-ММН при 25°C

Захваченное mAb	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t^{1/2}$ (мин.)

		hTMPRSS2- MMH (RU)				
Позитивный контроль*	226,2±1,9	58,4	6,02E+06	4,09E-04	6,80E-11	28,2
mAb8021	199,4±1,5	62,6	3,08E+06	9,19E-05	2,99E-11	125,7
mAb8029	234,6±2	64,5	2,18E+06	1,29E-04	5,92E-11	89,5

*Антитело положительного контроля H4H7017N, описанного в публикации международного патента № WO/2019/147831

Таблица 6. Кинетика связывания mAb к TMPRSS2, связывающихся с hTMPRSS2-ММН при 37°C

Захваченное mAb	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ hTMPRSS2- ММН (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t_{1/2}$ (мин.)
Позитивный контроль*	144,9±1,3	28,5	9,93E+06	2,21E-03	2,22E-10	5,2
mAb8021	134,9±1,1	40,1	4,17E+06	2,61E-04	6,27E-11	44,2
mAb8029	147,8±0,5	35,9	3,12E+06	6,73E-04	2,16E-10	17,2

*Антитело положительного контроля H4H7017N, описанного в публикации международного патента № WO/2019/147831

Таблица 7. Кинетика связывания mAb к TMPRSS2, связывающихся с mFTMPRSS2-ММН при 25°C

Захваченное mAb	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ mfTMPRSS2-ММН (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	К _D (М)	t ^{1/2} (мин.)
Позитивный контроль*	231,4±4,4	47,2	6,60E+06	8,78E-03	1,33E-09	1,3
mAb8021	201,5±1,9	63,4	4,48E+06	1,13E-04	2,52E-11	102,2
mAb8029	233,5±2,2	66,7	3,20E+06	1,96E-04	6,09E-11	59,1

*Антитело положительного контроля Н4Н7017N, описанного в публикации международного патента № WO/2019/147831

Таблица 8. Кинетика связывания mAb к TMPRSS2, связывающихся с mfTMPRSS2-ММН при 37°C

Захваченное mAb	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ mfTMPRSS2-ММН (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	К _D (М)	t ^{1/2} (мин.)
Позитивный контроль*	144,7±0,8	11,8	1,08E+07	3,96E-02	3,66E-09	0,3
mAb8021	134,4±0,6	36,7	7,71E+06	1,09E-04	1,41E-11	106,3
mAb8029	146,0±0,2	35,3	5,17E+06	3,92E-04	7,58E-11	29,5

*Антитело положительного контроля Н4Н7017N, описанного в публикации международного патента № WO/2019/147831

Таблица 9. Кинетика связывания mAb к TMPRSS2, связывающихся с rTMPRSS2-ММН при 25°C

Захваченное mAb	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ rTMPRSS2- ММН (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t^{1/2}$ (мин.)
Позитивный контроль**	207,6±2,4	0,24	NB*	NB*	NB*	NB*
mAb8021	300,2±0,9	-0,31	NB*	NB*	NB*	NB*
mAb8029	326,7±1,3	41,21	1,07E+05	3,64E-04	3,40E-09	31,8

*В текущих экспериментальных условиях связывания не наблюдалось.

**Антитело положительного контроля Н4Н7017N, описанного в публикации международного патента № WO/2019/147831

Таблица 10. Кинетика связывания mAb к TMPRSS2, связывающихся с rTMPRSS2-ММН при 37°C

Захваченное mAb	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ rTMPRSS2- ММН (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t^{1/2}$ (мин.)
Позитивный контроль**	259,6±0,9	0,5	NB*	NB*	NB*	NB*
mAb8021	365,6±1	-0,6	NB*	NB*	NB*	NB*
mAb8029	404,1±3,7	65,4	6,82E+04	1,72E-03	2,51E-08	6,7

*В текущих экспериментальных условиях связывания не наблюдалось.

**Антитело положительного контроля Н4Н7017N, описанного в публикации международного патента № WO/2019/147831

Таблица 11. Кинетика связывания mAb к TMPRSS2, связывающихся с mTMPRSS2-ММН при 25°C

Захваченное mAb	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ mTMPRSS2-ММН (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t_{1/2}$ (мин.)
Позитивный контроль**	204,6±1,6	-0,81	NB*	NB*	NB*	NB*
mAb8021	298,6±0,8	-0,8	NB*	NB*	NB*	NB*
mAb8029	324,2±1	41,99	1,33E+05	4,42E-04	3,33E-09	26,2

*В текущих экспериментальных условиях связывания не наблюдалось.

**Антитело положительного контроля H4H7017N, описанного в публикации международного патента № WO/2019/147831

Таблица 12. Кинетика связывания mAb к TMPRSS2, связывающихся с mTMPRSS2-ММН при 37°C

Захваченное mAb	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ mTMPRSS2-ММН (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t_{1/2}$ (мин.)
Позитивный контроль**	258,4±2,4	0,0	NB*	NB*	NB*	NB*
mAb8021	363,0±1,0	-0,5	NB*	NB*	NB*	NB*
mAb8029	402,4±3,3	64,7	2,14E+05	2,09E-03	9,75E-09	5,5

* указывает, что в текущих экспериментальных условиях связывания не наблюдалось.

**Антитело положительного контроля H4H7017N, описанного в публикации международного патента № WO/2019/147831

Пример 4. Чувствительность антител к TMPRSS2 к pH

[000187] Константу скорости диссоциации (k_d) для TMPRSS2, связывающихся с очищенным моноклональным антителом к TMPRSS2, определяли с применением биосенсорной платформы Biacore T200 на основе поверхностного плазмонного резонанса в реальном времени. Все исследования связывания проводили при 37°C с применением двух подвижных буферов: (i) 1,9 мМ NaH₂PO₄, 8,1 мМ Na₂HPO₄, 2,7 мМ KCl, 137 мМ NaCl, 0,05% об./об. поверхностно-активного вещества Tween-20, pH 7,4 (PBS-T-pH 7,4) и (ii) 8,8 мМ NaH₂PO₄, 1,2 мМ Na₂HPO₄, 2,7 мМ KCl, 137 мМ NaCl, 0,05% об./об. поверхностно-активного вещества Tween-20, pH 6,0 (PBS-T-pH6,0). Поверхность сенсора CM5 Biacore, дериватизированную аминовым связыванием со специфическими мышинными mAb к Fc человека, использовали для захвата различных mAb к TMPRSS2. Все реагенты TMPRSS2 экспрессировали с С-концевой меткой тус-тус-гексагистидина (впоследствии называемые TMPRSS2-ММН). Различные концентрации TMPRSS2-ММН человека, TMPRSS2-ММН яванской макаки, TMPRSS2-ММН крысы или TMPRSS2-ММН мыши, приготовленные в подвижном буфере PBS-T-pH7,4 (25 нМ - 6,25 нМ; 4-кратное серийное разведение), вводили в течение 2,5 минуты при скорости потока 30 мкл/минуту с последующей диссоциацией связанных белков TMPRSS2-ММН в подвижных буферах PBS-T-pH7,4 или PBS-T-pH6,0 в течение 8 минут.

[000188] Константу скорости диссоциации (k_d) в двух подвижных буферах определяли путем аппроксимации сенсограмм связывания в режиме реального времени по модели связывания 1:1 с применением программного обеспечения для подбора кривой Scrubber 2.0с.

[000189] Значения скорости диссоциации для mAb к TMPRSS2, связывающегося с TMPRSS2-ММН человека, TMPRSS2-ММН обезьяны, TMPRSS2-ММН крысы и TMPRSS2-ММН мыши при 37°C в PBS-T-pH7,4 и PBS-T-pH6,0 показаны в таблицах 13-16. Ни одно из антител не проявляло чувствительности к pH.

Таблица 13. Константы скорости диссоциации mAb к TMPRSS2, связывающихся с TMPRSS2-ММН человека, при 37°C в PBS-T-pH7,4 и PBS-T-pH6,0

Связывание TMPRSS2-ММН человека при 37°C									
Подвижный буфер с pH 7,4					Подвижный буфер с pH 6,0				Соотношение t _{1/2} (pH7,4/ pH6,0)
Захватываемое mAb	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ Ag (RU)	kd (1/c)	t _{1/2} (мин.)	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ Ag (RU)	kd (1/c)	t _{1/2} (мин.)	
Позитивный контроль*	332	66	2,63 E-03	4	320,4	67	3,05E-03	4	1,2
mAb80 21	254,9	69	1,92 E-04	60	245,9	71	1,29E-04	90	0,7
mAb80 29	368,8	82	6,24 E-04	19	356,2	80	6,15E-04	19	1,0

*Антитело положительного контроля H4H7017N, описанного в публикации международного патента № WO/2019/147831

Таблица 14. Константы скорости диссоциации mAb к TMPRSS2, связывающихся с TMPRSS2-ММН обезьяны, при 37°C в PBS-T-pH7,4 и PBS-T-pH6,0

Связывание TMPRSS2-ММН обезьяны при 37°C		
Подвижный буфер с pH 7,4		Подвижный буфер с pH 6,0

101									
Позитивный контроль **	297,2	0	NB*	NB*	295,7	0	NB*	NB*	NB*
mAb8021	333,6	-1	NB*	NB*	332,4	-1	NB*	NB*	NB*
mAb8029	340,4	70	2,02E-03	6	338,2	71	2,28E-03	5	1,1

*В текущих экспериментальных условиях связывания не наблюдалось.

**Антитело положительного контроля H4H7017N, описанного в публикации международного патента № WO/2019/147831

Таблица 16. Константы скорости диссоциации mAb к TMPRSS2, связывающихся с TMPRSS2-ММН мыши, при 37°C в PBS-T-pH7,4 и PBS-T-pH6,0

Связывание TMPRSS2-ММН мыши при 37°C									
	Подвижный буфер с pH 7,4				Подвижный буфер с pH 6,0				Соотношение t _{1/2} (pH7,4/ pH6,0)
	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ Ag (RU)	kd (1/с)	t _{1/2} (мин.)	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ Ag (RU)	kd (1/с)	t _{1/2} (мин.)	
Позитивный контроль **	330,7	-1	NB*	NB*	317,3	-1	NB*	NB*	NB*
mAb8021	251,3	-2	NB*	NB*	244,8	-1	NB*	NB*	NB*

					102				
mAb8029	359,9	74	2,46E-03	5	360,9	74	2,57E-03	4	1,0

*В текущих экспериментальных условиях связывания не наблюдалось.

**Антитело положительного контроля H4H7017N, описанного в публикации международного патента № WO/2019/147831

Пример 5. Перекрестная конкуренция в анализе Octet между моноклональными антителами к TMPRSS2

[000190] Конкуренцию за связывание моноклональных антител к TMPRSS2 (mAb) определяли с применением анализа методом безметочной биослойной интерферометрии (BLI) в режиме реального времени на платформе биосенсора Octet HTX (Pall ForteBio Corp.). Весь эксперимент проводили при 25°C в буфере, содержащем 10 мМ HEPES, 150 мМ NaCl, 0,05% об./об. поверхностно-активного вещества Tween-20, 1 мг/мл BSA, 0,02% NaN₃, pH 7,4 (HBS-P), при встряхивании планшета со скоростью 1000 об./мин. Чтобы оценить, способны ли два mAb конкурировать друг с другом за связывание со своими соответствующими эпитопами на TMPRSS2, эктодомен TMPRSS2-ММН человека (hTMPRSS2-ММН) сначала захватывали на наконечниках биосенсора Octet, покрытых антителом к пента-His (HIS1K), погружая наконечники биосенсора на 1,5 минуты в лунки, содержащие 10 мкг/мл раствора hTMPRSS2-ММН. Затем наконечники биосенсора с захваченным hTMPRSS2-ММН насыщали первым mAb к TMPRSS2 (впоследствии называемым mAb-1) путем погружения в лунки, содержащие раствор с концентрацией 50 мкг/мл mAb-1, на 5 минут. Затем наконечники биосенсора последовательно погружали в лунки, содержащие раствор второго mAb к TMPRSS2 (впоследствии называемого mAb-2) с концентрацией 50 мкг/мл, на 5 минут. Наконечники биосенсора промывали в буфере HBS-P между всеми этапами эксперимента. Мониторинг ответа связывания в реальном времени осуществляли в течение всего эксперимента и регистрировали ответ связывания в конце каждой стадии. Сравнивали ответ связывания mAb-2 с предварительно полученным комплексом hTMPRSS2-ММН и mAb-1, и определяли характер

конкурентного/неконкурентного связывания различных mAb к TMPRSS2, как показано в таблице 17.

[000191] Константу скорости диссоциации (k_d) в двух подвижных буферах определяли путем аппроксимации сенсограмм связывания в режиме реального времени по модели связывания 1:1 с применением программного обеспечения для подбора кривой Scrubber 2.0c.

Таблица 17. Перекрестная конкуренция между mAb к TMPRSS2

mAb-1	mAb-2, конкурирующее с mAb-1
Позитивный контроль*	mAb8021
	mAb8029
mAb8021	Позитивный контроль*
	mAb8029
mAb8029	Позитивный контроль*
	mAb8021

*Антитело положительного контроля H4N7017N, описанного в публикации международного патента № WO/2019/147831

[000192] Все цитируемые в данном документе литературные источники включены посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, запись в базе данных (*например*, последовательности в Genbank или записи в GeneID), патентная заявка или патент были специально и индивидуально указаны как включенные

посредством ссылки. Это заявление о включении посредством ссылки предусматривается заявителями для связи с каждой отдельной публикацией, записью в базе данных (*например*, последовательностями в Genbank или записями в GeneID), заявкой на патент или патентом, идентифицированным даже если такая ссылка непосредственно не упоминается рядом со специальным заявлением о включении посредством ссылки. Включение в настоящее описание специальных заявлений о включении посредством ссылки, если таковые имеются, никоим образом не ослабляет данное общее заявление о включении посредством ссылки. Цитирование ссылок в данном документе не является признанием того, что ссылка относится к предшествующему уровню техники, а также не означает признание содержания или даты этих публикаций или документов.

Формула изобретения

1. Выделенное рекомбинантное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с трансмембранной сериновой протеазой 2 человека (TMPRSS2), где антитело имеет одну или более из следующих характеристик:

(a) связывается с TMPRSS2 с EC_{50} , составляющей менее чем приблизительно 10^{-9} М;

(b) демонстрирует увеличение выживаемости у животного, инфицированного коронавирусом, после введения указанному животному, инфицированному коронавирусом, по сравнению с сопоставимым животным, инфицированным коронавирусом, по отношению к которому указанное введение не осуществляется; и/или

(c) содержит

(i) три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащиеся в пределах вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с HCVR, представленной под SEQ ID NO: 2; и три CDR легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), содержащиеся в пределах вариабельной области легкой цепи (LCVR), содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с LCVR, представленной под SEQ ID NO: 10, или

(ii) три CDR тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащиеся в пределах HCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с HCVR, представленной под SEQ ID NO: 22; и три CDR легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), содержащиеся в пределах LCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с LCVR, представленной под SEQ ID NO: 30; или

(iii) три CDR тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащиеся в пределах HCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с HCVR, представленной под SEQ ID NO: 42; и три CDR легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), содержащиеся в пределах LCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с LCVR, представленной под SEQ ID NO: 50.

2. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, где указанные антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат три CDR тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащиеся в пределах HCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с HCVR, представленной под SEQ ID NO: 2; и три CDR легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), содержащиеся в пределах LCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с LCVR, представленной под SEQ ID NO: 10.

3. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 1 или п. 2, содержащие

(a) переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2; и/или

(b) переменную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10.

4. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3, содержащие

(a) переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90%

идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 2; и/или

(b) переменную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 10.

5. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-4, содержащие

переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая включает

(a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 4,

(b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 6,

и/или

(c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 8,

и/или

переменную область легкой цепи иммуноглобулина, которая включает

(a) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 12,

(b) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 14, и/или

(c) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

6. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-5, содержащие

(a) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 18, или переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2;

и/или

(b) легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 20, или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10.

7. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три CDR тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащиеся в пределах HCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с HCVR, представленной под SEQ ID NO: 22; и три CDR легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2, и CDR-L3), содержащиеся в пределах LCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с LCVR, представленной под SEQ ID NO: 30.

8. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 1 или п. 7, содержащие

(a) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 22; и/или

(b) вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 30.

9. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из п. 1 или пп. 7-8, содержащие

(a) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 22; и/или

(b) вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 30.

10. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из п. 1 или пп. 7-9, содержащие

вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая включает

(a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 24,

(b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 26, и/или

(c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28, и/или

вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, которая включает

(a) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 32,

(b) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 34, и/или

(c) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 36.

11. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из п. 1 или пп. 7-10, содержащие

(a) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 38, или вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 22;

и/или

(b) легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 40, или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 30.

12. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три CDR тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащиеся в пределах HCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с HCVR, представленной под SEQ ID NO: 42; и три CDR легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2, и CDR-L3), содержащиеся в пределах LCVR, содержащей аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 90% идентичностью последовательности с LCVR, представленной под SEQ ID NO: 50.

13. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 1 или п. 12, содержащие

(a) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 42; и/или

(b) вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 50.

14. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из п. 1 или пп. 12-13, содержащие

(a) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 42; и/или

(b) вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90%

идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 30.

15. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из п. 1 или пп. 12-14, содержащие

вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая включает

(a) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 44,

(b) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 46, и/или

(c) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 48, и/или

вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, которая включает

(a) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 52,

(b) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54, и/или

(c) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 56.

16. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из п. 1 или пп. 12-15, содержащие

(a) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 58, или вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 42;

и/или

(b) легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 60, или вариативную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 50.

17. Антигенсвязывающий белок, который конкурирует с антителом или антигенсвязывающим фрагментом по любому из вышеизложенных пунктов за связывание с TMPRSS2.

18. Антигенсвязывающий белок, который связывается с тем же эпитопом или с перекрывающимся эпитопом на TMPRSS2, что и антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из вышеизложенных пунктов.

19. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-18, которые являются полиспецифическими.

20. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-19, которые характеризуются одним или более из следующих свойств:

- a) подавляют рост коронавируса в клетках, экспрессирующих TMPRSS2;
- b) подавляют рост вируса гриппа в клетках, экспрессирующих TMPRSS2;
- c) связываются с поверхностью клеток, экспрессирующих TMPRSS2;
- d) не связываются в значительной степени с клетками MDCK/Tet-on, которые не экспрессируют TMPRSS2;
- e) ограничивают распространение коронавирусной инфекции в клетках *in vitro*;
- f) ограничивают распространение инфекции, вызванной вирусом гриппа, в клетках *in vitro*;
- g) защищают мышей, подвергнутых генной инженерии для экспрессии человеческого белка TMPRSS2, от смерти и/или потери веса, вызванных коронавирусной инфекцией; и

h) защищают мышей, подвергнутых генной инженерии для экспрессии человеческого белка TMPRSS2, от смерти, вызванной инфекцией, вызванной вирусом гриппа.

21. Комплекс, содержащий антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-19, связанный с полипептидом TMPRSS2.

22. Способ получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-20, включающий

(a) введение в клетку-хозяина одного или более полинуклеотидов, кодирующих указанные антитело или антигенсвязывающий фрагмент;

(b) культивирование клетки-хозяина в условиях, благоприятных для экспрессии одного или более полинуклеотидов; и

(c) необязательно выделение антитела или антигенсвязывающего фрагмента из клетки-хозяина и/или среды, в которой выращивают клетку-хозяина.

23. Способ по п. 22, где клетка-хозяин представляет собой клетку яичника китайского хомячка.

24. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые представляют собой продукт способа по любому из пп. 22-23.

25. Полипептид, содержащий

(a) CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 домена V_H антитела или антигенсвязывающего фрагмента, который содержит аминокислотную последовательность, представленную под любым из SEQ ID NO: 2, 22 или 42; или

(b) CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 домена V_L цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 30 или 50.

26. Полинуклеотид, кодирующий полипептид по п. 25.

27. Вектор, содержащий полинуклеотид по п. 26.

28. Клетка-хозяин, содержащая антитело или антигенсвязывающий фрагмент, или полипептид, или полинуклеотид, или вектор по любому из пп. 1-20 и пп. 24-27.

29. Композиция или набор, содержащие антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-20 и п. 24, в сочетании с дополнительным терапевтическим средством.

30. Фармацевтическая композиция, содержащая антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1-20 и п. 24 и фармацевтически приемлемый носитель и необязательно дополнительное терапевтическое средство.

31. Композиция или набор по любому из пп. 29-30 в сочетании с дополнительным терапевтическим средством, которое представляет собой противовирусное лекарственное средство или вакцину.

32. Композиция или набор по любому из пп. 29-30, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой средство, выбранное из группы, состоящей из ремдесивира, хлорохина, лопинавира, ритонавира, рибавирина, ледипасвира, софосбувира, комбинации ледипасвира и софосбувира, осельтамивира, занамивира, рибавирина и интерферона-альфа2b, интерферона-альфа2a, противоракового средства и антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с НА гриппа или шиповидным белком коронавируса; и/или

антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, выбранные из группы, состоящей из H1N14611N2; H1N14612N2; H1N11723P; H1N11729P; H1N11820N; H1N11829N; H1N11829N2; H2aM11829N; H2M11830N; H1N11830N2; H1N11903N; H1N14571N; H2a14571N ; H1N11704P; H1N11711P; H1N11714P; H1N11717P; H1N11724P; H1N11727P; H1N11730P2; H1N11731P2; H1N11734P2; H1N11736P2; H1N11742P2; H1N11744P2; H1N11745P2; H1N11747P2; H1N11748P2; H1N17952B; H1N17953B; H1N17954B; H1N17955B; H1N17956B; H1N17957B; H1N17958B; H1N17959B; H1N17960B; H1N17961B; H1N17962B; H1N17963B; H1N17964B; H1N17965B; H1N17966B; H1N17967B; H1N17968B; H1N17969B; H1N17970B; H1N17971B; H1N17972B; H1N17973B; H1N17974B; H1N17975B; H1N17976B; H1N17977B; H1N17978B; H1N17979B; H1N17980B; H1N17981B; H1N17982B;

H1H17983B; H1H17984B; H1H17985B; H1H17986B; H1H17987B; H1H17988B;
H1H17989B; H1H17990B; H1H17991B; H1H17992B; H1H17993B; H1H17994B;
H1H17995B; H1H17996B; H1H17997B; H1H17998B; H1H17999B; H1H18000B;
H1H18001B; H1H18002B; H1H18003B; H1H18004B; H1H18005B; H1H18006B;
H1H18007B; H1H18008B; H1H18009B; H1H18010B; H1H18011B; H1H18012B;
H1H18013B; H1H18014B; H1H18015B; H1H18016B; H1H18017B; H1H18018B;
H1H18019B; H1H18020B; H1H18021B; H1H18022B; H1H18023B; H1H18024B;
H1H18025B; H1H18026B; H1H18027B; H1H18028B; H1H18029B; H1H18030B;
H1H18031B; H1H18032B; H1H18033B; H1H18034B; H1H18035B; H1H18037B;
H1H18038B; H1H18039B; H1H18040B; H1H18041B; H1H18042B; H1H18043B;
H1H18044B; H1H18045B; H1H18046B; H1H18047B; H1H18048B; H1H18049B;
H1H18051B; H1H18052B; H1H18053B; H1H18054B; H1H18055B; H1H18056B;
H1H18057B; H1H18058B; H1H18059B; H1H18060B; H1H18061B; H1H18062B;
H1H18063B; H1H18064B; H1H18065B; H1H18066B; H1H18067B; H1H18068B;
H1H18069B; H1H18070B; H1H18071B; H1H18072B; H1H18073B; H1H18074B;
H1H18075B; H1H18076B; H1H18077B; H1H18078B; H1H18079B; H1H18080B;
H1H18081B; H1H18082B; H1H18083B; H1H18084B; H1H18085B; H1H18086B;
H1H18087B; H1H18088B; H1H18089B; H1H18090B; H1H18091B; H1H18092B;
H1H18093B; H1H18094B; H1H18095B; H1H18096B; H1H18097B; H1H18098B;
H1H18099B; H1H18100B; H1H18101B; H1H18102B; H1H18103B; H1H18104B;
H1H18105B; H1H18107B; H1H18108B; H1H18109B; H1H18110B; H1H18111B;
H1H18112B; H1H18113B; H1H18114B; H1H18115B; H1H18116B; H1H18117B;
H1H18118B; H1H18119B; H1H18120B; H1H18121B; H1H18122B; H1H18123B;
H1H18124B; H1H18125B; H1H18126B; H1H18127B; H1H18128B; H1H18129B;
H1H18130B; H1H18131B; H1H18132B; H1H18133B; H1H18134B; H1H18135B;
H1H18136B; H1H18137B; H1H18138B; H1H18139B; H1H18140B; H1H18141B;
H1H18142B; H1H18143B; H1H18144B; H1H18145B; H1H18146B; H1H18147B;
H1H18148B; H1H18149B; H1H18150B; H1H18151B; H1H18152B; H1H18153B;
H1H18154B; H1H18155B; H1H18156B; H1H18157B; H1H18158B; H1H18159B;
H1H18160B; H1H18161B; H1H18162B; H1H18163B; H1H18164B; H1H18165B;

H1H18166B; H1H18167B; H1H18168B; H1H18169B; H1H18170B; H1H18171B;
H1H18172B; H1H18173B; H1H18174B; H1H18175B; H1H18176B; H1H18177B;
H1H18178B; H1H18179B; H1H18180B; H1H18181B; H1H18182B; H1H18183B;
H1H18184B; H1H18185B; H1H18186B; H1H18187B; H1H18188B; H1H18189B;
H1H18190B; H1H18191B; H1H18192B; H1H18193B; H1H18194B; H1H18195B;
H1H18196B; H1H18197B; H1H18198B; H1H18199B; H1H18200B; H1H18201B;
H1H18202B; H1H18203B; H1H18204B; H1H18205B; H1H18206B; H1H18207B;
H1H18208B; H1H18209B; H1H18210B; H1H18211B; H1H18212B; H1H18213B;
H1H18214B; H1H18216B; H1H18217B; H1H18218B; H1H18219B; H1H18220B;
H1H18221B; H1H18222B; H1H18223B; H1H18224B; H1H18225B; H1H18226B;
H1H18227B; H1H18228B; H1H18229B; H1H18230B; H1H18231B; H1H18232B;
H1H18233B; H1H18234B; H1H18235B; H1H18236B; H1H18237B; H1H18238B;
H1H18239B; H1H18240B; H1H18241B; H1H18242B; H1H18243B; H1H18244B;
H1H18245B; H1H18246B; H1H18247B; H1H18248B; H1H18249B; H1H18250B;
H1H18251B; H1H18252B; H1H18253B; H1H18254B; H1H18255B; H1H18256B;
H1H18257B; H1H18258B; H1H18259B; H1H18261B; H1H18262B; H1H18263B;
H1H18264B; H1H18265B; H1H18266B; H1H18267B; H1H18268B; H1H18269B;
H1H18270B; H1H18271B; H1H18272B; H1H18274B; H1H18275B; H1H18276B;
H1H18277B; H1H18278B; H1H18279B; H1H18280B; H1H18281B; H1H18282B;
H1H18283B; H1H18284B; H1H18285B; H1H18286B; H1H18287B; H1H18288B;
H1H18289B; H1H18290B; H1H18291B; H1H18292B; H1H18293B; H1H18294B;
H1H18295B; H1H18297B; H1H18298B; H1H18299B; H1H18300B; H1H18301B;
H1H18302B; H1H18303B; H1H18304B; H1H18305B; H1H18306B; H1H18307B;
H1H18308B; H1H18309B; H1H18310B; H1H18311B; H1H18312B; H1H18313B;
H1H18314B; H1H18315B; H1H18316B; H1H18317B; H1H18318B; H1H18319B;
H1H18320B; H1H18321B; H1H18322B; H1H18323B; H1H18324B; H1H18325B;
H1H18326B; H1H18327B; H1H18328B; H1H18329B; H1H18330B; H1H18331B;
H1H18332B; H1H18333B; H1H18334B; H1H18335B; H4sH15188P; H1H15188P;
H1H15211P; H1H15177P; H4sH15211P; H1H15260P2; H1H15259P2; H1H15203P;

H4sH15260P2; H4sH15231P2; H1H15237P2; H1H15208P; H1H15228P2; H1H15233P2; H1H15264P2; H1H15231P2; H1H15253P2; H1H15215P и H1H15249P2.

33. Емкость или устройство для инъекций, содержащие антигенсвязывающий белок или композицию по любому из пп. 1-20, п. 24 и пп. 29-32.

34. Способ лечения или предупреждения рака или инфекции, вызванной вирусом гриппа, коронавирусом, SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2, вирусом парагриппа, метапневмовирусом человека или вирусом гепатита С (HCV) у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка по любому из пп. 1-20 и п. 24.

35. Способ по п. 34 для лечения или предупреждения рака, где указанный рак представляет собой рак предстательной железы, рак толстой кишки, рак легкого, рак поджелудочной железы, рак мочевыводящих путей, рак молочной железы, рак яичника, аденокарциному предстательной железы, почечно-клеточную карциному, колоректальную аденокарциному, аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого и/или мезотелиому плевры.

36. Способ по любому из пп. 34-35, где субъекту вводят одно или более дополнительных терапевтических средств.

37. Способ по п. 36, где субъекту вводят одно или более дополнительных терапевтических средств, которые представляют собой противовирусное лекарственное средство или вакцину.

38. Способ по любому из пп. 34-35, где субъекту вводят одно или более дополнительных терапевтических средств, выбранных из группы, состоящей из ремдесвира, хлорохина, лопинавира, ритонавира, рибавирина, ледипасвира, софосбувира, комбинации ледипасвира и софосбувира, осельтамивира, занамивира, рибавирина и интерферона-альфа2b, интерферона-альфа2a и антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с HA гриппа или шиповидным белком коронавируса; и/или антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, выбранные из группы, состоящей из H1H14611N2; H1H14612N2; H1H11723P;

H1H11729P; H1H11820N; H1H11829N; H1H11829N2; H2aM11829N; H2M11830N;
H1H11830N2; H1H11903N; H1H14571N; H2a14571N ; H1H11704P; H1H11711P;
H1H11714P; H1H11717P; H1H11724P; H1H11727P; H1H11730P2; H1H11731P2;
H1H11734P2; H1H11736P2; H1H11742P2; H1H11744P2; H1H11745P2; H1H11747P2;
H1H11748P2; H1H17952B; H1H17953B; H1H17954B; H1H17955B; H1H17956B;
H1H17957B; H1H17958B; H1H17959B; H1H17960B; H1H17961B; H1H17962B;
H1H17963B; H1H17964B; H1H17965B; H1H17966B; H1H17967B; H1H17968B;
H1H17969B; H1H17970B; H1H17971B; H1H17972B; H1H17973B; H1H17974B;
H1H17975B; H1H17976B; H1H17977B; H1H17978B; H1H17979B; H1H17980B;
H1H17981B; H1H17982B; H1H17983B; H1H17984B; H1H17985B; H1H17986B;
H1H17987B; H1H17988B; H1H17989B; H1H17990B; H1H17991B; H1H17992B;
H1H17993B; H1H17994B; H1H17995B; H1H17996B; H1H17997B; H1H17998B;
H1H17999B; H1H18000B; H1H18001B; H1H18002B; H1H18003B; H1H18004B;
H1H18005B; H1H18006B; H1H18007B; H1H18008B; H1H18009B; H1H18010B;
H1H18011B; H1H18012B; H1H18013B; H1H18014B; H1H18015B; H1H18016B;
H1H18017B; H1H18018B; H1H18019B; H1H18020B; H1H18021B; H1H18022B;
H1H18023B; H1H18024B; H1H18025B; H1H18026B; H1H18027B; H1H18028B;
H1H18029B; H1H18030B; H1H18031B; H1H18032B; H1H18033B; H1H18034B;
H1H18035B; H1H18037B; H1H18038B; H1H18039B; H1H18040B; H1H18041B;
H1H18042B; H1H18043B; H1H18044B; H1H18045B; H1H18046B; H1H18047B;
H1H18048B; H1H18049B; H1H18051B; H1H18052B; H1H18053B; H1H18054B;
H1H18055B; H1H18056B; H1H18057B; H1H18058B; H1H18059B; H1H18060B;
H1H18061B; H1H18062B; H1H18063B; H1H18064B; H1H18065B; H1H18066B;
H1H18067B; H1H18068B; H1H18069B; H1H18070B; H1H18071B; H1H18072B;
H1H18073B; H1H18074B; H1H18075B; H1H18076B; H1H18077B; H1H18078B;
H1H18079B; H1H18080B; H1H18081B; H1H18082B; H1H18083B; H1H18084B;
H1H18085B; H1H18086B; H1H18087B; H1H18088B; H1H18089B; H1H18090B;
H1H18091B; H1H18092B; H1H18093B; H1H18094B; H1H18095B; H1H18096B;
H1H18097B; H1H18098B; H1H18099B; H1H18100B; H1H18101B; H1H18102B;
H1H18103B; H1H18104B; H1H18105B; H1H18107B; H1H18108B; H1H18109B;

H1H18110B; H1H18111B; H1H18112B; H1H18113B; H1H18114B; H1H18115B;
H1H18116B; H1H18117B; H1H18118B; H1H18119B; H1H18120B; H1H18121B;
H1H18122B; H1H18123B; H1H18124B; H1H18125B; H1H18126B; H1H18127B;
H1H18128B; H1H18129B; H1H18130B; H1H18131B; H1H18132B; H1H18133B;
H1H18134B; H1H18135B; H1H18136B; H1H18137B; H1H18138B; H1H18139B;
H1H18140B; H1H18141B; H1H18142B; H1H18143B; H1H18144B; H1H18145B;
H1H18146B; H1H18147B; H1H18148B; H1H18149B; H1H18150B; H1H18151B;
H1H18152B; H1H18153B; H1H18154B; H1H18155B; H1H18156B; H1H18157B;
H1H18158B; H1H18159B; H1H18160B; H1H18161B; H1H18162B; H1H18163B;
H1H18164B; H1H18165B; H1H18166B; H1H18167B; H1H18168B; H1H18169B;
H1H18170B; H1H18171B; H1H18172B; H1H18173B; H1H18174B; H1H18175B;
H1H18176B; H1H18177B; H1H18178B; H1H18179B; H1H18180B; H1H18181B;
H1H18182B; H1H18183B; H1H18184B; H1H18185B; H1H18186B; H1H18187B;
H1H18188B; H1H18189B; H1H18190B; H1H18191B; H1H18192B; H1H18193B;
H1H18194B; H1H18195B; H1H18196B; H1H18197B; H1H18198B; H1H18199B;
H1H18200B; H1H18201B; H1H18202B; H1H18203B; H1H18204B; H1H18205B;
H1H18206B; H1H18207B; H1H18208B; H1H18209B; H1H18210B; H1H18211B;
H1H18212B; H1H18213B; H1H18214B; H1H18216B; H1H18217B; H1H18218B;
H1H18219B; H1H18220B; H1H18221B; H1H18222B; H1H18223B; H1H18224B;
H1H18225B; H1H18226B; H1H18227B; H1H18228B; H1H18229B; H1H18230B;
H1H18231B; H1H18232B; H1H18233B; H1H18234B; H1H18235B; H1H18236B;
H1H18237B; H1H18238B; H1H18239B; H1H18240B; H1H18241B; H1H18242B;
H1H18243B; H1H18244B; H1H18245B; H1H18246B; H1H18247B; H1H18248B;
H1H18249B; H1H18250B; H1H18251B; H1H18252B; H1H18253B; H1H18254B;
H1H18255B; H1H18256B; H1H18257B; H1H18258B; H1H18259B; H1H18261B;
H1H18262B; H1H18263B; H1H18264B; H1H18265B; H1H18266B; H1H18267B;
H1H18268B; H1H18269B; H1H18270B; H1H18271B; H1H18272B; H1H18274B;
H1H18275B; H1H18276B; H1H18277B; H1H18278B; H1H18279B; H1H18280B;
H1H18281B; H1H18282B; H1H18283B; H1H18284B; H1H18285B; H1H18286B;
H1H18287B; H1H18288B; H1H18289B; H1H18290B; H1H18291B; H1H18292B;

H1H18293B; H1H18294B; H1H18295B; H1H18297B; H1H18298B; H1H18299B;
H1H18300B; H1H18301B; H1H18302B; H1H18303B; H1H18304B; H1H18305B;
H1H18306B; H1H18307B; H1H18308B; H1H18309B; H1H18310B; H1H18311B;
H1H18312B; H1H18313B; H1H18314B; H1H18315B; H1H18316B; H1H18317B;
H1H18318B; H1H18319B; H1H18320B; H1H18321B; H1H18322B; H1H18323B;
H1H18324B; H1H18325B; H1H18326B; H1H18327B; H1H18328B; H1H18329B;
H1H18330B; H1H18331B; H1H18332B; H1H18333B; H1H18334B; H1H18335B;
H4sH15188P; H1H15188P; H1H15211P; H1H15177P; H4sH15211P; H1H15260P2;
H1H15259P2; H1H15203P; H4sH15260P2; H4sH15231P2; H1H15237P2; H1H15208P;
H1H15228P2; H1H15233P2; H1H15264P2; H1H15231P2; H1H15253P2; H1H15215P и
H1H15249P2.

39. Способ введения антигенсвязывающего белка по любому из пп. 1-20 и п. 24 в организм субъекта, включающий введение путем инъекции антигенсвязывающего белка в организм субъекта.

40. Способ по п. 39, где антигенсвязывающий белок вводят путем инъекции в организм субъекта подкожно, внутривенно или внутримышечно.