

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291641** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.10.20

(51) Int. Cl. **A61K 38/02** (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.01.08

(54) АНТИТЕЛО ПРОТИВ РЕЦЕПТОРА ТРАНСФЕРРИНА (TFR) И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

(31) **62/968,252; 63/055,405**

(72) Изобретатель:

(32) **2020.01.31; 2020.07.23**

Субраманиян Ромеш Р., Катанани

(33) **US**

Мохаммед Т., Уиден Тимоти,

(86) **PCT/US2021/012666**

Дежарден Коди А., Куинн Брендан

(87) **WO 2021/154476 2021.08.05**

(US)

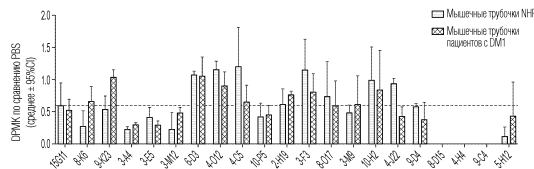
(71) Заявитель:

(74) Представитель:

ДАЙН ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

Медведев В.Н. (RU)

(57) Аспекты настоящего изобретения относятся к антителам, связывающимся с рецептором трансферрина (например, рецептором трансферрина 1), и комплексам, содержащим антитело, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой. Настоящее изобретение также относится к способам получения и применения антител.



202291641 A1

202291641 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-574852EA/23

АНТИТЕЛО ПРОТИВ РЕЦЕПТОРА ТРАНСФЕРРИНА (TfR) И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с 35 U.S.C § 119(e) по дате подачи временной заявки США № 63/055405, названной "ANTI-TRANSFERRIN RECEPTOR (TfR) ANTIBODY AND USES THEREOF", поданной 23 июля 2020 года, и временной заявки США № 62/968252, названной "ANTI-TRANSFERRIN RECEPTOR (TfR) ANTIBODY AND USES THEREOF", поданной 31 января 2020 года; содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Настоящая заявка относится к новым антителам против рецептора трансферрина (TfR) и применению антитела.

ССЫЛКА НА СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПОДАННЫЙ В ВИДЕ ТЕКСТОВОГО ФАЙЛА ПОСРЕДСТВОМ EFS-WEB

[0003] Настоящая заявка содержит список последовательностей, поданный в формате ASCII посредством EFS-WEB и включенный, таким образом, посредством ссылки в полном объеме. Указанная ASCII копия, созданная 8 января 2021 года, названа D082470023WO00-SEQ-ZJG и имеет размер 180 килобайт.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Рецептор трансферрина (TfR) является димерным трансмембранным гликопротеиновым рецептором, участвующим в транспорте железа. У людей описано два рецептора трансферрина, рецептор трансферрина 1 (TfR1) и рецептор трансферрина 2 (TfR2). Показано, что TfR гиперэкспрессирован в злокачественных клетках с более высоким метастатическим потенциалом. TfR1, как показано, экспрессирующийся на эндотелиальных клетках гематоэнцефалитического барьера, можно использовать, чтобы сделать возможной доставку крупных молекул в головной мозг.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] Настоящее изобретение основано по меньшей мере частично на разработке новых антител, связывающихся с рецептором трансферрина (антител против TfR). В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, селективно связываются с рецептором трансферрина человека или не являющегося человеком примата (NHP) с высокой специфичностью и аффинностью (например, в субнанолярно-нанолярном диапазоне). В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, можно использовать для таргетинга тканей и/или (например, и) клеток, экспрессирующих TfR. В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, используют для детекции TfR в клетке или ткани. В некоторых вариантах

осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, используют в диагностических, терапевтических или исследовательских целях. В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, используют для доставки молекулярной нагрузки в целевую клетку или ткань (например, клетку или ткань, экспрессирующую TfR).

[0006] В связи с этим, в некоторых аспектах настоящее изобретение относится к комплексам, содержащим антитела против TfR, конъюгированные (например, ковалентно конъюгированные) с молекулярной нагрузкой (например, диагностическим средством или терапевтическое средство). В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR используют для доставки конъюгированной молекулярной нагрузки в клетку или ткань, экспрессирующую TfR1 (например, мышцы или головной мозг) для диагностики и/или (например, и) лечения заболевания (например, мышечного заболевания или неврологического заболевания). В некоторых аспектах в настоящем описании приведены данные, демонстрирующие, что антитела против TfR, представленные в настоящем описании, имеют превосходную активность в доставке молекулярной нагрузки в клетку-мишень (например, мышечную клетку) по сравнению с другими известными антителами против TfR.

[0007] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к антителам, связывающимся с рецептором трансферрина человека (TfR), где антитело содержит: CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 любого из антител, приведенных в таблице 1; и/или где антитело содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, любого из антител, приведенных в таблице 1 или таблице 3.

[0008] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к антителам (например, выделенным антителам), связывающимся с рецептором трансферрина человека (TfR), где антитело содержит: (i) определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (CDR-H1), определяющую комплементарность область тяжелой цепи 2 (CDR-H2) и определяющую комплементарность область тяжелой цепи 3 (CDR-H3) переменной области тяжелой цепи (VH), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и/или (например, и) (ii) определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (CDR-L1), определяющую комплементарность область легкой цепи 2 (CDR-L2) и определяющую комплементарность область легкой цепи 3 (CDR-L3) переменной области легкой цепи (VL), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

[0009] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 1, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 2, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 3; и/или (например, и) CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 4, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 145, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 146, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 147; и/или (например, и) CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 148, CDR-L2, приведенную

в SEQ ID NO: 149, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 150, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 151, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 152; и/или (например, и) CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 153, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 154.

[00010] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 1, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 233 или SEQ ID NO: 80, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 3; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 4, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 145, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 234 или SEQ ID NO: 236, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 147; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 148, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 149, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 150, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 277 или SEQ ID NO: 278, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 152; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 153, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 154.

[00011] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 7, и/или (например, и) VL, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 8.

[00012] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к антителам (например, выделенным антителам), связывающимся с рецептором трансферрина человека (TfR), где антитело содержит: (i) определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (CDR-H1), определяющую комплементарность область тяжелой цепи 2 (CDR-H2) и определяющую комплементарность область тяжелой цепи 3 (CDR-H3) переменной области тяжелой цепи (VH), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; и/или (например, и) (ii) определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (CDR-L1), определяющую комплементарность область легкой цепи 2 (CDR-L2) и определяющую комплементарность область легкой цепи 3 (CDR-L3) переменной области легкой цепи (VL), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16.

[00013] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 9, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 10, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 11; и/или (например, и) CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 12, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 13, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 155, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 156, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 157; и/или (например, и) CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 158, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 159, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах

осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 160, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 161, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 162; и/или (например, и) CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 163, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 13, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 164.

[00014] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 237 или SEQ ID NO: 239, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 18, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 19; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 20, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 238 или SEQ ID NO: 240, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 166, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 167; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 168, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 169, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22.

[00015] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 15, и/или (например, и) VL, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 16.

[00016] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к антителам (например, выделенным антителам), связывающимся с рецептором трансферрина человека (TfR). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит: (i) определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (CDR-H1), определяющую комплементарность область тяжелой цепи 2 (CDR-H2) и определяющую комплементарность область тяжелой цепи 3 (CDR-H3) вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23; и/или (например, и) (ii) определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (CDR-L1), определяющую комплементарность область легкой цепи 2 (CDR-L2), и определяющую комплементарность область легкой цепи 3 (CDR-L3) вариабельной области легкой цепи (VL), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24.

[00017] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 17, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 18, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 19; и/или (например, и) CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 20, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 165, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 166, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 167; и/или (например, и) CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 168, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 169, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 170, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 171, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 172; и/или (например, и) CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 173, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 174.

[00018] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 23, и/или (например, и) VL, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 24.

[00019] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит человеческие или гуманизированные каркасные области с CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 VH, приведенного в SEQ ID NO: 15, и CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 VL, приведенного в SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит человеческие или гуманизированные каркасные области с CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 VH, приведенного в SEQ ID NO: 7, и CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 VL, приведенного в SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит человеческие или гуманизированные каркасные области с CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 VH, приведенного в SEQ ID NO: 23, и CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 VL, приведенного в SEQ ID NO: 24.

[00020] В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным антителом. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит гуманизированный VH и/или (например, и) гуманизированный VL. В некоторых вариантах осуществления антитело выбрано из группы, состоящей из полноразмерного IgG, Fab-фрагмента, F(ab')-фрагмента, F(ab')₂-фрагмента, scFv и Fv.

[00021] В некоторых вариантах осуществления антитело является полноразмерным IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи изотипа IgG1, приведенную в SEQ ID NO: 175 или SEQ ID NO: 176. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 178, и/или (например, и) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 179. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 180, и/или (например, и) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 181. В некоторых вариантах осуществления тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 182, и/или (например, и) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 183.

[00022] В некоторых вариантах осуществления антитело является F(ab')-фрагментом. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 185, и/или (например, и) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 179. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую

аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 186, и/или (например, и) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 181. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 187, и/или (например, и) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 183.

[00023] Настоящее изобретение дополнительно относится к антителам (например, выделенным антителам), связывающимся с рецептором трансферрина человека (TfR). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит: CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 10 изменений аминокислот, предпочтительно - не более 8 изменений аминокислот, и более предпочтительно не более 5 изменений аминокислот, по сравнению с CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 любого из антител, приведенных в таблице 1; и/или (например, и), где антитело содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 10 изменений аминокислот, предпочтительно - не более 8 изменений аминокислот, по сравнению с CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 любого из антител, приведенных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит: CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 любого из антител, приведенных в таблице 1; и/или (например, и) антитело содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, любого из антител, приведенных в таблице 1.

[00024] В некоторых вариантах осуществления антитела (например, выделенные антитела), связывающиеся с рецептором трансферрина человека (TfR), содержат: CDR-H1, приведенную как GYSITSGYX₁ (SEQ ID NO: 286), в которой X₁ может являться Y или G; CDR-H2, приведенную как IX₂FDGX₃X₄ (SEQ ID NO: 287), в которой X₂ может являться T или N, X₃ может являться A или N, и X₄ может являться N, T, или S; CDR-H3, приведенную как X₅RX₆X₇YDYDX₈X₉DX₁₀ (SEQ ID NO: 288), где X₅ является T или A, X₆ является S, F, или I, X₇ является S, N или Y, X₈ является P, Y или V, X₉ является I, F или L, и X₁₀ является Y или F; и/или (например, и) CDR-L1, приведенную как QDIX₁₁NX₁₂ (SEQ ID NO: 289), в которой X₁₁ является S или T, и X₁₂ является F, C, S или Y; CDR-L2, приведенную как YTS (SEQ ID NO: 13); и CDR-L3, приведенную как QQGX₁₃X₁₄X₁₅PX₁₆T (SEQ ID NO: 290), в которой X₁₃ является H или N, X₁₄ является T или A, X₁₅ является L или Y, и X₁₆ является Y, W или F.

[00025] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против TfR, представленных в настоящем описании, связывается с рецептором трансферрина 1 (TfR1) с K_D менее 10⁻⁸ M.

[00026] Настоящее изобретение также относится к нуклеиновым кислотам, кодирующим любые из антител, представленных в настоящем описании, векторам, содержащим такие нуклеиновые кислоты, клеткам, содержащим такие векторы.

[00027] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к способам получения антитела против TfR1. В некоторых вариантах осуществления способы включают

культивирование клеток, содержащих нуклеиновые кислоты, кодирующие любое из антител, представленных в настоящем описании, в условиях, подходящих для экспрессии антитела.

[00028] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к комплексам, содержащим любое из антител, представленных в настоящем описании, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является диагностическим средством или терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом, полипептидом или низкомолекулярным соединением. В некоторых вариантах осуществления антитело и молекулярная нагрузка связаны через линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер является обратимым линкером. В некоторых вариантах осуществления линкер является линкером val-Cit.

[00029] Настоящее изобретение также относится к композициям, содержащим любое из антител, представленных в настоящем описании, любую из нуклеиновых кислот, представленных в настоящем описании, любой из векторов, представленных в настоящем описании, или любой из комплексов, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель.

[00030] Настоящее изобретение также относится к способам детекции рецептора трансферрина в биологическом образце. В некоторых вариантах осуществления способы включают приведение любого из антител, представленных в настоящем описании, в контакт с биологическим образцом и измерение связывания антитела с биологическим образцом. В некоторых вариантах осуществления антитело ковалентно связано с диагностическим средством. В некоторых вариантах осуществления биологический образец получают из человека, как предполагают имеющего или имеющего риск развития заболевания, ассоциированного с рецептором трансферрина. В некоторых вариантах осуществления стадию приведения в контакт осуществляют посредством введения индивидууму эффективного количества антитела против TfR.

[00031] Настоящее изобретение также относится к способу доставки молекулярной нагрузки в клетку. В некоторых вариантах осуществления способы включают приведение любого из комплексов, представленных в настоящем описании, в контакт с клеткой. В некоторых вариантах осуществления клетка является мышечной клеткой. В некоторых вариантах осуществления клетка находится *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления клетка находится в организме индивидуума. В некоторых вариантах осуществления индивидуум является человеком.

[00032] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу доставки молекулярной нагрузки в головной мозг или мышцу индивидуума. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение индивидууму эффективного количества любого из комплексов, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления введение является внутривенным.

[00033] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способам лечения заболевания. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение индивидууму эффективного количества любого из комплексов, представленных в настоящем описании, например, в котором молекулярная нагрузка является терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления заболевание является неврологическим заболеванием, и молекулярная нагрузка является лекарственным средством для лечения неврологического заболевания. В некоторых вариантах осуществления заболевание является мышечным заболеванием, и, например, молекулярная нагрузка является лекарственным средством для лечения мышечного заболевания. В некоторых вариантах осуществления мышечное заболевание является редким мышечным заболеванием или мышечной атрофией.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[00034] На фиг. 1 показан скрининг антител против TfR.

[00035] Фиг. 2А и 2В являются графиками, на которых показана экспрессия TfR1 в тканях. Фиг. 2А: TfR1 мышцы; фиг. 2В: TfR1 яванского макака.

[00036] Фиг. 3 является графиком, на котором показана эффективность нокдауна DMPK (KD) в клетках не являющегося человеком примата (NHP) или клетках людей-пациентов с DM1 (DM1) с помощью конъюгатов, содержащих выбранные антитела против TfR1, ковалентно конъюгированнын с контрольным бессмысловым олигонуклеотидом, нацеленным на DMPK.

[00037] На фиг. 4 показана стабильность линкера, используемого для связывания антитела против TfR и молекулярной нагрузки (например, олигонуклеотида), в сыворотке различных биологических видов с течением времени после внутривенного введения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00038] Настоящее изобретение по меньшей мере частично основано на разработке антител против TfR, например, антител, приведенных в таблице 1, и их вариантов, демонстрирующих высокую аффинность связывания и специфичность к TfR человека. Настоящее изобретение также относится к применению антител против TfR и их вариантов в исследовательских, диагностических/детекторных и терапевтических целях. В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, используют для доставки молекулярной нагрузки (например, олигонуклеотидов, пептидов, низкомолекулярных соединений) в целевую клетку или ткань, экспрессирующую TfR. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка, подлежащая нагрузке, конъюгирована с антителами против TfR, и ее доставляют в целевую клетку или ткань, экспрессирующую TfR, посредством интернализации рецептора. Неограничивающие примеры тканей, экспрессирующих TfR, и которые можно подвергать таргетингу с использованием антител против TfR, представленных в настоящем описании, включают: головной мозг, мышцы, надпочечник, аппендикс, костный мозг, толстый кишечник, двенадцатиперстную кишку, эндометрий, пищевод, жировую ткань, желчный пузырь, сердце, почку, печень, легкое, лимфоузел,

яичник, поджелудочную железу, плаценту, предстательную железу, слюнную железу, кожу, тонкий кишечник, селезенку, желудок, яичник, щитовидную железу, мочевой пузырь. В некоторых вариантах осуществления такой подход обладает положительным эффектом в отношении мышечных клеток и для доставки через гематоэнцефалитический барьер, что оказалось затруднительным. В некоторых аспектах в настоящем описании представлены данные, свидетельствующие о том, что антитела против TfR, представленные в настоящем описании, обладают превосходной активностью при доставке молекулярной нагрузки в клетку-мишень (например, мышечную клетку), по сравнению с другими известными антителами против TfR.

[00039] В связи с этим, настоящее изобретение также относится к комплексам, содержащим любое из антител против TfR1, ковалентно связанных с молекулярной нагрузкой. В некоторых вариантах осуществления комплексы особенно подходят для доставки молекулярной нагрузки, ингибирующей экспрессию или активность генов-мишеней в мышечных клетках, например, у индивидуума, имеющего или, как предполагают, имеющего редкое мышечное заболевание или мышечную атрофию (например, как указано в таблице 7). В некоторых вариантах осуществления комплексы особенно подходят для доставки лекарственных средств в головной мозг для лечения неврологического заболевания (например, как указано в таблице 8).

[00040] Дополнительные аспекты изобретения, включая описание определенных терминов, приведены ниже.

I. Определения

[00041] **Введение:** В рамках изобретения термин "введение" означает предоставление комплекса индивидууму таким образом, что это можно использовать физиологически и/или фармакологически (например, для лечения состояния у индивидуума).

[00042] **Приблизительно:** В рамках изобретения термин "приблизительно" в отношении одного или более интересующих значений относится к значению, схожему с указанным референсным значением. В некоторых вариантах осуществления термин "приблизительно" относится к диапазону значений, попадающих в 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или менее в любом направлении (более чем или менее чем) от указанного референсного значения, если не указано иначе или иное не очевидно из контекста (за исключением того случая, когда такое количество будет превышать 100% возможного значения).

[00043] **Антитело:** В рамках изобретения термин "антитело" относится к полипептиду, включающему по меньшей мере один переменный домен иммуноглобулина или по меньшей мере одну антигенную детерминанту, например, паратоп, специфически связывающийся с антигеном. В некоторых вариантах осуществления антитело является полноразмерным антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело является химерным антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным антителом. Однако в некоторых

вариантах осуществления антитело является Fab-фрагментом, F(ab')-фрагментом, F(ab')₂-фрагментом, F_v-фрагментом или scF_v-фрагментом. В некоторых вариантах осуществления антитело является нанотелом, полученным из антитела Верблюдовых, или нанотелом, полученным из антитела акулы. В некоторых вариантах осуществления антитело является диателом. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит каркас, имеющий последовательность зародышевой линии человека. В другом варианте осуществления антитело содержит константный домен тяжелой цепи, выбранный из группы, состоящей из константных доменов IgG, IgG1, IgG2, IgG2A, IgG2B, IgG2C, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgM и IgE. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (H) (сокращенно обозначаемую в настоящем описании как VH), и/или (например, и) переменную область легкой цепи (L) (сокращенно обозначаемую в настоящем описании как VL). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константный домен, например, Fc-область. Термин "константный домен иммуноглобулина" относится к константному домену тяжелой или легкой цепи. Известны аминокислотные последовательности константного домена тяжелой цепи и легкой цепи IgG человека и их функциональные варианты. Что касается тяжелой цепи, в некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела, представленная в настоящем описании, может являться тяжелой цепью альфа (α), дельта (Δ), эpsilon (ε), гамма (γ) или мю (μ). В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь антитела, представленная в настоящем описании, может включать тяжелую цепь альфа (α), дельта (Δ), эpsilon (ε), гамма (γ) или мю (μ) человека. В конкретном варианте осуществления антитело, представленное в настоящем описании, содержит домен CH1, CH2 и/или (например, и) CH3 гамма 1 человека. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность домена VH содержит аминокислотную последовательность константной области тяжелой цепи гамма (γ) человека, такую как любая известная в этой области. Неограничивающие примеры последовательностей константной области человека описаны в этой области, например, см. патент США № 5693780 и Kabat E A et al., (1991) выше. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или по меньшей мере 99% идентичной любой из константных областей переменной цепи, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело является модифицированным, например, модифицированным посредством гликозилирования, фосфорилирования, сумоилирования и/или (например, и) метилирования. В некоторых вариантах осуществления антитело является гликозилированным антителом, конъюгированным с одной или более молекулами сахара или углевода. В некоторых вариантах осуществления одна или более молекул сахара или углевода конъюгированы с антителом посредством N-гликозилирования, O-гликозилирования, C-гликозилирования, глипирования (присоединения GPI-якоря) и/или (например, и) фосфогликозилирования. В некоторых вариантах осуществления одна или более молекул сахара или углевода представляют

собой моносахариды, дисахариды, олигосахариды или гликаны. В некоторых вариантах осуществления одна или более молекул сахара или углевода представляет собой разветвленный олигосахарид или разветвленный гликан. В некоторых вариантах осуществления одна или более молекул сахара или углевода включает маннозное звено, глюкозное звено, звено N-ацетилглюкозамина, звено N-ацетилгалактозамина, галактозное звено, фукозное звено или фосфолипидное звено. В некоторых вариантах осуществления антитело является конструкцией, содержащей полипептид, содержащий один или более антигенсвязывающих фрагментов по изобретению, соединенных с линкерным полипептидом или константным доменом иммуноглобулина. Линкерные полипептиды содержат два или более аминокислотных остатка, соединенных пептидными связями, и их используют для соединения одной или более антигенсвязывающих частей. Описаны примеры линкерных полипептидов (см., например, Holliger, P., et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak, R. J., et al. (1994) *Structure* 2:1121-1123). Кроме того, антитело может являться частью более крупной молекулы иммуноадгезии, образованной посредством ковалентного или нековалентного связи антитела или части антитела с одним или более другими белками или пептидами. Примеры таких молекул иммуноадгезии включают использование коровой области стрептавидина для получения тетрамерной молекулы scFv (Kipriyanov, S. M., et al. (1995) *Human antibodies and Hybridomas* 6:93-101) и использование остатка цистеина, пептида-маркера и C-концевой полигистидиновой метки для получения бивалентных и биотинилированных молекул scFv (Kipriyanov, S. M., et al. (1994) *Mol. Immunol.* 31:1047-1058).

[00044] **CDR:** В рамках изобретения термин "CDR" относится к определяющей комплементарности области в переменных последовательностях антитела. Типичная молекула антитела содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), как правило, участвующие в связывании антигена. Области VH и VL можно дополнительно разделять на гиперпеременные области, также известными как "определяющие комплементарности области" ("CDR"), чередующиеся в областях, являющимися более консервативными, известными как "каркасные области" ("FR"). Каждый VH и VL, как правило, состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от амино-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Протяженность каркасной области и CDR можно точно определять с использованием методологии, известной в этой области, например, определения по Kabat, определения по IMGT, определения по Chothia, определения по AbM и/или (например, и) определения по системе Contact, все из которых хорошо известны в этой области. См., например, Kabat, E.A., et al. (1991) *Sequence of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; IMGT®, The International Immunogenetics information system® <http://www.imgt.org>, Lefranc, M.-P. et al., *Nucleic Acids Res.*, 27:209-212 (1999); Ruiz, M. et al., *Nucleic Acids Res.*, 28:219-221 (2000); Lefranc, M.-P., *Nucleic Acids Res.*, 29:207-209 (2001); Lefranc, M.-P., *Nucleic Acids Res.*, 31:307-310 (2003); Lefranc, M.-P. et al., *In Silico Biol.*, 5, 0006 (2004) [Epub], 5:45-60 (2005);

Lefranc, M.-P. et al., *Nucleic Acids Res.*, 33:D593-597 (2005); Lefranc, M.-P. et al., *Nucleic Acids Res.*, 37:D1006-1012 (2009); Lefranc, M.-P. et al., *Nucleic Acids Res.*, 43:D413-422 (2015); Chothia et al., (1989) *Nature* 342:877; Chothia, C. et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901-917, Al-lazikani et al (1997) *J. Molec. Biol.* 273:927-948; и Almagro, *J. Mol. Recognit.* 17:132-143 (2004). Также см. hgmp.mrc.ac.uk и bioinf.org.uk/abs. В рамках изобретения термин "CDR" может относиться к CDR, определенной любым известным в этой области способом. То, что два антитела имеют одинаковую CDR, означает, что два антитела имеют одинаковую аминокислотную последовательность этой CDR, определяемую одним и тем же способом, например, определением по IMGT.

[00045] Существует три CDR в каждой из переменных областей тяжелой цепи и легкой цепи, обозначаемые как CDR1, CDR2 и CDR3, для каждой из переменных областей. В рамках изобретения термин "набор CDR" относится к группе из трех CDR, встречающихся в одной переменной области, способной связывать антиген. Точные границы этих CDR определяют по-разному в разных системах. Система, описанная Kabat (Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) и (1991)), не только представляет собой систему однозначной нумерации остатков, которую можно использовать в отношении любой переменной области антитела, но также позволяет определять точные границы остатков и, таким образом, три CDR. Эти CDR можно обозначать как CDR Kabat. Подчасти CDR можно обозначать как L1, L2 и L3 или H1, H2 и H3, где "L" и "H" означают области легкой цепи и тяжелой цепи, соответственно. Эти области можно обозначать как CDR Chothia, имеющие границы, перекрывающиеся с CDR Kabat. Другие границы, определяющие CDR, перекрывающиеся с CDR Kabat, описаны Padlan (*FASEB J.* 9:133-139 (1995)) и MacCallum (*J Mol Biol* 262(5):732-45 (1996)). Другие определения границ CDR могут не следовать строго одной из указанных выше систем, но все равно будут перекрываться с CDR Kabat, хотя они могут быть укорочены или удлинены в свете прогнозирования или экспериментальных данных о том, что конкретные остатки, или группы остатков, или даже целые CDR не влияют значительно на связывание антигена. В способах, используемых в настоящем описании, можно использовать CDR, определенные по любой из этих систем, хотя в предпочтительных вариантах осуществления используют CDR, определенные по Kabat или Chothia.

[00046] **Антитело с пересаженным CDR:** Термин "антитело с пересаженным CDR" относится к антителам, содержащим последовательности переменной области тяжелой и легкой цепей одного биологического вида, но в которых последовательности одной или более из областей CDR VH и/или (например, и) VL заменяют последовательностями CDR другого биологического вида, таким как антитела, имеющие переменные области тяжелой и легкой цепей мыши, в которых одну или более CDR мыши (например, CDR3) заменяют последовательностями CDR человека.

[00047] **Химерное антитело:** Термин "химерное антитело" относится к антителам, содержащим последовательности переменной области тяжелой и легкой цепей одного

биологического вида и последовательности константной области другого биологического вида, таким как антитела, имеющие переменные области тяжелой и легкой цепи мыши, соединенные с константными областями человека.

[00048] **Комплементарный:** В рамках изобретения термин "комплементарный" относится к возможности точного спаривания между двумя нуклеотидами или двумя наборами нуклеотидов. В частности, "комплементарный" представляет собой термин, характеризующий степень спаривания водородных связей, приводящую к связыванию между двумя нуклеотидами или двумя наборами нуклеотидов. Например, если основание в одном положении олигонуклеотида может связываться посредством водородных связей с основанием в соответствующем положении нуклеиновой кислоты-мишени (например, мРНК), основания считают комплементарными друг другу в этом положении. Спаривание оснований может включать каноническое уотсон-криковское спаривание и не-уотсон-криковское спаривание (например, неоднозначное спаривание оснований и хугстиновское спаривание оснований). Например, в некоторых вариантах осуществления в случае комплементарного спаривания оснований основания типа аденозина (А) являются комплементарными основаниям типа тимидина (Т) или основаниям типа урацила (U), основания типа цитозина (С) являются комплементарными основаниям типа гуанозина (G), и универсальные основания, такие как 3-нитропиррол или 5-нитроиндол, могут гибридизоваться, и их считают комплементарными любому из А, С, U или Т. В этой области инозин (I) также считают универсальным основанием, и его считают комплементарным любому из А, С, U или Т.

[00049] **Консервативная аминокислотная замена:** В рамках изобретения термин "консервативная аминокислотная замена" относится к замене аминокислоты, не изменяющей относительные характеристики заряда или размера белка, в котором сделана замена аминокислоты. Варианты можно получать способами изменения полипептидной последовательности, известными специалисту в этой области, такими как обнаруживаемые в источниках, в которых скомпилированы такие способы, например, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, J. Sambrook, et al., eds., Fourth Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2012, или *Current Protocols in Molecular biology*, F.M. Ausubel, et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., New York. Консервативные замены аминокислот включают замены, сделанные среди аминокислот в следующих группах: (a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N; и (g) E, D.

[00050] **Ковалентно связанный:** В рамках изобретения термин "ковалентно связанный" относится к характеристике двух или более молекулы, соединенных с помощью по меньшей мере одной ковалентной связи. В некоторых вариантах осуществления две молекулы могут являться ковалентно связанными посредством одинарной связи, например, дисульфидной связи или дисульфидного мостика, служащей в качестве линкера между молекулами. Однако в некоторых вариантах осуществления две или более молекулы могут являться ковалентно связанными с помощью молекулы,

служащей в качестве линкера, соединяющего две или более молекул через множество ковалентных связей. В некоторых вариантах осуществления линкер может являться расщепляемым линкером. Однако в некоторых вариантах осуществления линкер может являться нерасщепляемым линкером.

[00051] **Перекрестно реактивный:** В рамках изобретения и в отношении направляющего средства (например, антитела) термин "перекрестно реактивный" относится к свойству средства быть способным специфически связываться с более чем одним антигеном схожего типа или класса (например, антигенами многочисленных гомологов, паралоогов или ортологов) со схожей аффинностью или авидностью. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело, перекрестно реактивное в отношении антигенов человека и не являющегося человеком примата схожего типа или класса (например, рецептор трансферрина человека и рецептор трансферрина не являющегося человеком примата), может связываться с антигеном человека и антигенами не являющегося человеком примата со схожей аффинностью или авидностью. В некоторых вариантах осуществления антитело является перекрестно реактивным в отношении антигена человека и антигена грызуна схожего типа или класса. В некоторых вариантах осуществления антитело является перекрестно реактивным в отношении антигена грызуна и антигена не являющегося человеком примата схожего типа или класса. В некоторых вариантах осуществления антитело является перекрестно реактивным в отношении антигена человека, антигена не являющегося человеком примата и антигена грызуна схожего типа или класса.

[00052] **Каркас:** В рамках изобретения термин "каркас" или "каркасная последовательность" относится к остальным последовательностям вариабельной области без CDR. Т.к. точное определение последовательности CDR можно осуществлять с помощью различных систем, значение термина "каркасная последовательность", соответственно, является предметом разной интерпретации. Шесть CDR (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи и CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи) также разделяют каркасные области легкой цепи и тяжелой цепи на четыре подобласти (FR1, FR2, FR3 и FR4) на каждой цепи, где CDR1 расположена между FR1 и FR2, CDR2 - между FR2 и FR3, и CDR3 - между FR3 и FR4. Без определения конкретных подобластей как FR1, FR2, FR3 или FR4, каркасная область, как указано другими, представляет собой комбинированные FR в вариабельной области одной, природной цепи иммуноглобулина. В рамках изобретения FR представляет собой одну из четырех подобластей, и FR представляют собой две или более из четырех подобластей, составляющих каркасную область. В этой области известны акцепторные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи человека. В одном из вариантов осуществления акцепторные последовательности, известные в этой области, можно использовать в антителах, представленных в настоящем описании.

[00053] **Антитело человека:** В рамках изобретения термин "антитело человека" предназначен для включения антител, имеющих вариабельные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека.

Антитела человека по изобретению могут включать аминокислотные остатки, неcodируемые последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии человека (например, мутации, встраиваемые посредством случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или в результате соматической мутации *in vivo*), например, в CDR и, в частности, CDR3. Однако, в рамках изобретения термин "антитело человека" не предназначен для включения антител, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии другого вида млекопитающих, такого как мышь, пересаживают на каркасные последовательности человека.

[00054] **Гуманизованное антитело:** Термин "гуманизованное антитело" относится к антителам, содержащим последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи не являющихся человеком видов (например, мыши), но в которых по меньшей мере часть последовательности VH и/или (например, и) VL изменена в направлении более "человекоподобной", т.е. более похожей на последовательности варибельной области зародышевой линии человека. Одним из типов гуманизованного антитела является антитело с пересаженными CDR, в котором последовательности CDR человека встраивают в не принадлежащие человеку последовательности VH и VL для замены соответствующих не принадлежащих человеку последовательностей CDR. В одном из вариантов осуществления изобретение относится к гуманизованным антителам против TfR и их антигенсвязывающим частям. Такие антитела можно получать посредством получения моноклональных антител мыши против рецептора трансферрина с использованием общепринятой гибридомной технологии с последующей гуманизацией с использованием генетической инженерии *in vitro*, например, как описано в публикации РСТ № WO 2005/123126 A2 Kasaian et al.

[00055] **Выделенное антитело:** В рамках изобретения термин "выделенное антитело" предназначен для обозначения антитела, по существу, не содержащего другие антитела, имеющие другие антигенные специфичности (например, выделенное антитело, специфически связывающееся с рецептором трансферрина, по существу, не содержит антитела, специфически связывающиеся с иными антигенами, чем рецептор трансферрина). Однако, выделенное антитело, специфически связывающееся с комплексом рецептора трансферрина, может иметь перекрестную реактивность в отношении других антигенов, таких как молекулы рецептора трансферрина, другого биологического вида. Кроме того, выделенное антитело может, по существу, не содержать другой клеточный материал и/или (например, и) химические вещества.

[00056] **Молекулярная нагрузка:** В рамках изобретения термин "молекулярная нагрузка" относится к молекуле, функционирующей, модулируя биологический исход. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка связана или иначе ассоциирована с антителом против TfR. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является низкомолекулярным соединением, белком, пептидом, нуклеиновой кислотой или олигонуклеотидом. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка функционирует, модулируя транскрипцию последовательности

ДНК, модулируя экспрессию белка или модулируя активность белка. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом, содержащим цепь, имеющую область комплементарности гену-мишени.

[00057] **Олигонуклеотид:** В рамках изобретения термин "олигонуклеотид" относится к олигомерному соединению нуклеиновой кислотой длиной до 200 нуклеотидов. Неограничивающие примеры олигонуклеотидов включают олигонуклеотиды РНКи (например, миРНК, shRNA), микроРНК, гэдмеры, миксмеры, фосфородиамидит-морфолиносоединения, пептид-нуклеиновые кислоты, аптамеры, гидовые нуклеиновые кислоты (например, гидовую РНК Cas9) и т.д. Олигонуклеотиды могут являться одноцепочечными или двухцепочечными. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может содержать один или более модифицированных нуклеотидов (например, модификации 2'-О-метил-сахара, модификации пурина или пиримидина). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может содержать одну или более модифицированных межнуклеотидных связей. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может содержать одну или более фосфотиоатных связей, которые могут находиться в стереохимической конформации Rp или Sp.

[00058] **Рекомбинантное антитело:** В рамках изобретения термин "рекомбинантное антитело человека" предназначен для включения всех антител человека, полученных, экспрессированных, созданных или выделенных рекомбинантными способами, таких как антитела, экспрессированные с использованием рекомбинантного экспрессирующего вектора, с использованием которого трансфицируют клетку-хозяина (что более подробно описано в настоящем описании), антитела, выделенные из рекомбинантной, комбинаторной библиотеки антител человека (Hoogenboom H. R., (1997) TIB Tech. 15:62-70; Azzazy H., and Highsmith W. E., (2002) Clin. Biochem. 35:425-445; Gavilondo J. V., and Larrick J. W. (2002) BioTechniques 29:128-145; Hoogenboom H., and Chames P. (2000) Immunology Today 21:371-378), антитела, выделенные из животного (например, мыши), являющегося трансгенным по генам иммуноглобулина человека (см., например, Taylor, L. D., et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295; Kellermann S-A., и Green L. L. (2002) Current Opinion in Biotechnology 13:593-597; Little M. et al (2000) Immunology Today 21:364-370), или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими способами, включающими сплайсинг последовательностей генов иммуноглобулинов человека в другие последовательности ДНК. Такие рекомбинантные антитела человека содержат переменные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Однако в некоторых вариантах осуществления такие рекомбинантные антитела человека подвергают мутагенезу *in vitro* (или, если используют животное, трансгенное по последовательностям Ig человека, соматическому мутагенезу *in vivo*), и, таким образом, аминокислотные последовательности областей VH и VL рекомбинантных антител являются последовательностями, которые, хоть и получены и относятся к последовательностям VH и VL зародышевой линии человека, могут не существовать в

природе в репертуаре антител зародышевой линии человека *in vivo*. Один из вариантов осуществления настоящего изобретения относится к полностью человеческим антителам человека, способным связываться с рецептором трансферрина человека, которые можно получать способами, хорошо известными в этой области, в качестве неограничивающих примеров, такими как, использование фаговых библиотек Ig человека, таких как описываемые в публикации РСТ № WO 2005/007699 A2 Jermutus et al.

[00059] **Область комплементарности:** В рамках изобретения термин "область комплементарности" относится к нуклеотидной последовательности, например, олигонуклеотида, достаточно комплементарной когнатной нуклеотидной последовательности, например, целевой нуклеиновой кислоты, таким образом, что две нуклеотидные последовательности могут отжигаться друг с другом в физиологических условиях (например, в клетке). В некоторых вариантах осуществления область комплементарности полностью комплементарна когнатной нуклеотидной последовательности целевой нуклеиновой кислоты. Однако, в некоторых вариантах осуществления область комплементарности частично комплементарна когнатной нуклеотидной последовательности целевой нуклеиновой кислоте (например, по меньшей мере 80%, 90%, 95% или 99% комплементарности). В некоторых вариантах осуществления область комплементарности содержит 1, 2, 3 или 4 неправильных спариваний по сравнению с когнатной нуклеотидной последовательностью целевой нуклеиновой кислоты.

[00060] **Специфически связывается:** В рамках изобретения термин "специфически связывается" относится к способности молекулы связываться с партнером по связыванию со степенью аффинности или авидности, позволяющей использовать молекулу для различения партнера по связыванию и соответствующего контроля в анализе связывания или другом контексте связывания. В отношении антитела термин "специфически связывается" относится к способности антитела связываться со специфическим антигеном со степенью аффинности или авидности по сравнению с соответствующим референсным антигеном или антигенами, что позволяет использовать антитело для различения специфического антигена от других, например, в степени, делающей возможной преференциальный таргетинг к некоторым клеткам, например, мышечным клеткам, через связывание с антигеном, как представлено в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело специфически связывается с мишенью, если антитело имеет K_D для связывания мишени по меньшей мере приблизительно 10^{-4} М, 10^{-5} М, 10^{-6} М, 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М, 10^{-12} М, 10^{-13} М или менее. В некоторых вариантах осуществления антитело специфически связывается с рецептором трансферрина.

[00061] **Индивидуум:** В рамках изобретения термин "индивидуум" относится к млекопитающему. В некоторых вариантах осуществления индивидуум представляет собой не являющегося человеком примата или грызуна. В некоторых вариантах осуществления индивидуум является человеком. В некоторых вариантах осуществления

индивидуум является пациентом, например, пациентом-человеком, имеющим или, как предполагают, имеющим заболевание. В некоторых вариантах осуществления индивидуум является пациентом-человеком, имеющим или, как предполагают, имеющим заболевание, являющееся результатом экспансии ассоциированных с заболеванием повторов, например, в аллеле DMPK.

[00062] **Рецептор трансферрина:** В рамках изобретения термин "рецептор трансферрина" (также известный как TFRC, CD71, p90, TfR или TFR1) относится к интернализирующемуся рецептору поверхности клетки, связывающемуся с трансферрином, для облегчения захвата железа посредством эндоцитоза. В некоторых вариантах осуществления рецептор трансферрина может принадлежать человеку (NCBI Gene ID 7037), не являющемуся человеком примату (например, NCBI Gene ID 711568 или NCBI Gene ID 102136007) или грызуну (например, NCBI Gene ID 22042). Кроме того, охарактеризовано множество вариантов транскриптов человека, кодирующих разные изоформы рецептора (например, как аннотировано под регистрационными номерами GenBank RefSeq: NP_001121620.1, NP_003225.2, NP_001300894.1 и NP_001300895.1).

[00063] Пример аминокислотной последовательности рецептора трансферрина человека, соответствующей последовательности NCBI NP_003225.2 (изоформа 1 белка рецептор трансферрина 1, Homo sapiens), является следующим:

MMDQARSAFSNLFGEPLSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLA VDEEENADNNTK
 ANVTKPKRCSGSICYGTIAVIVFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGE
 DFPAARRLYWDDLKRK LSEKLDSTDFGTIKLLNENSYVPREAGSQKDENLALYVENQF
 REFKLSKVWRDQH FVVKIQVKDSAQNSV IIVDKNGRLVYLVENPGGYVA YSKAATVTGK
 LVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFP IV
 NAELSFHGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFP PSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGD
 CPSDWKTDSTCRMV TSESKNVKLTVSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDA
 WGPAAKSGVGTALLL KLAQMFSDMVLKDG FQPSRSIIFASWSAGDFG SVGATEWLEG
 YLSSLHLKAFTYINL DKAVLGTSNFKVSAS PLYTLIEKTMQNVKHPVTGQFLYQDSNW
 ASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIERIPELNKVAR
 AA AEVAGQFVIKLT HDVELNLDYERYNSQLLSFVRDLN QYRADIKEMGLSLQWLYSAR
 GDFFRATSRLTTDFGN AEKTDRFVMKKNDRVMRVEYHFLSPYVSPKESPFRHVFWS
 GSHTLPALLENLKRKQ NNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF
 (SEQ ID NO: 228).

[00064] Пример аминокислотной последовательности рецептора трансферрина не являющегося человеком примата, соответствующей последовательности NCBI NP_001244232.1 (белок рецептора трансферрина 1, Macaca mulatta), является следующим:

MMDQARSAFSNLFGEPLSYTRFSLARQVDGDN SHVEMKLG VDEEENTDNNTK
 PNGTKPKRCGGNICYGTIAV IIFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEE
 DFPAAPRLYWDDLKRK LSEKLDTTDFSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQF
 REFKLSKVWRDQH FVVKIQVKDSAQNSV IIVDKNGGLVYLVENPGGYVA YSKAATVTGK
 LVHANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFP IV

KADLSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAA EKLFGNMEG
 DCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRD
 AWGPGA AKSSVGTALLKLAQMFS DMVLK DGFQPSRSIIFASWSAGDFG SVGATEWLE
 GYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSLYQDSN
 WASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKV
 ARAAAEVAGQFVIKLTHTDELNDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGLSLQWLYS
 ARGDFFRATSRLTTDFRNAEKRDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKESPRHVFV
 GSGSHTLSALLESKLRQNN SAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF(
 SEQ ID NO: 229)

[00065] Пример аминокислотной последовательности рецептора трансферрина не являющегося человеком примата, соответствующей последовательности NCBI XP_005545315.1 (белок рецептора трансферрина 1, *Macaca fascicularis*), является следующим:

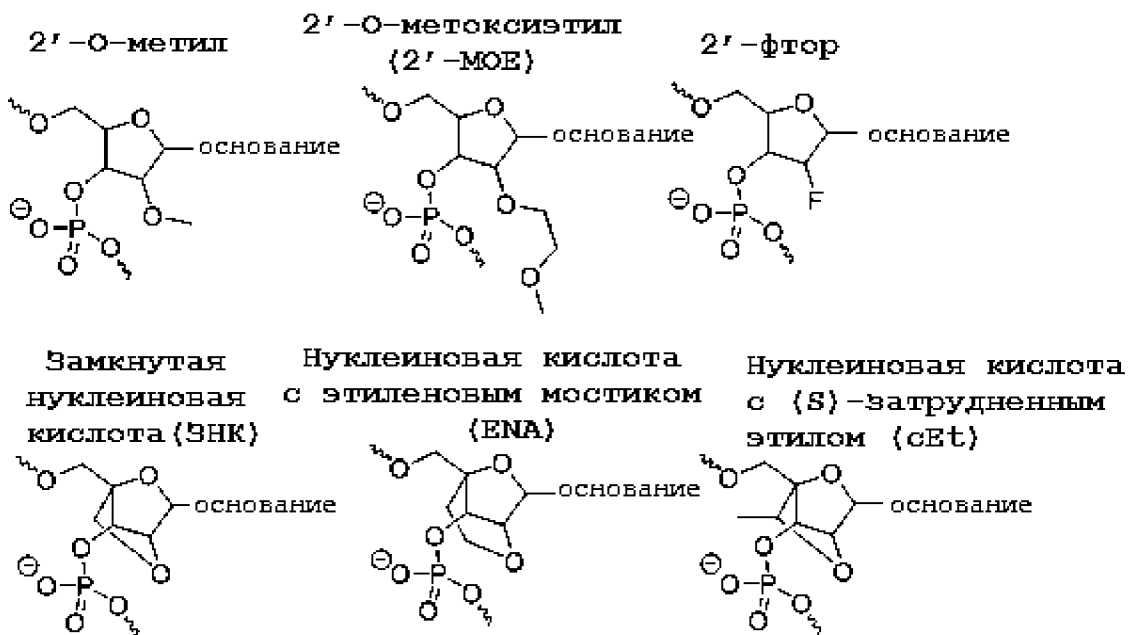
MMDQARSAFSNLFGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLGVD EENTDNNTK
 ANGTKPKRCGGNICYGTIAV IIFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPAREEPEE
 DFPAAPRLYWDDLKRKLSEKLDTTDFTSTIKLLNENLYVPREAGSQKDENLALYIENQF
 REFKLSKVWRDQHFKIQVKDS AQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVA YSKAATVTGK
 LVHANFGTKKDFEDLDS PVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIV
 KADLSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAA EKLFGNMEG
 DCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSNVLKETKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRD
 AWGPGA AKSSVGTALLKLAQMFS DMVLK DGFQPSRSIIFASWSAGDFG SVGATEWLE
 GYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQDVKHPVTGRSLYQDSN
 WASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELVERIPELNKV
 ARAAAEVAGQFVIKLTHTDELNDYERYNSQLLLFLRDLNQYRADVKEMGLSLQWLYS
 ARGDFFRATSRLTTDFRNAEKRDKFVMKKLNDRVMRVEYYFLSPYVSPKESPRHVFV
 GSGSHTLSALLESKLRQNN SAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF
 (SEQ ID NO: 230).

[00066] Пример аминокислотной последовательности рецептора трансферрина мыши, соответствующей последовательности NCBI NP_001344227.1 (белок рецептора трансферрина 1, *Mus musculus*), является следующим:

MMDQARSAFSNLFGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLA ADEEENADNNM
 KASVRKPKRFNGRLCFAAIALVIFFLIGFMSGYLG YCKRVEQKEECVKLAETEETDKSET
 METEDVPTSSRLYWADLKTLLSEKLN SIEFADTIKQLSQNTYTPREAGSQKDESLAYYIE
 NQFHEFKFSKVWRDEHYVKIQVKSSIGQNMVTIVQSNGNLDPVESPEGYVAFSKPTEVS
 GKL VHANFGTKKDFEELS SVNGSLVIVRAGEITFAEKVANAQSFNAIGVLIYMDKNKF
 PVVEADLALFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAA EKLF GK
 MEGSCPARWNIDSSCKLELSQNQNVKLIVKNVLKERRILNIFGVIKGYEEPDRYVVVGA
 QRDALGAGVAAKSSVGTGLLLKLAQVFS DMISKDGF RPSRSIIFASWTAGDFGAVGATE
 WLEGYLSSLHLKAFTYINLDKVV LGTSNFKVSASPLLYTLMGKIMQDVKHPVDGKSLY
 RDSNWISKVEKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDADYPYLGTRLDTYEALTQKVPQ

LNQMVRTAAEVAGQLIKLTHDVELNLDYEMYNKLLSFMKDLNQFKTDIRDMGLSLQ
WLYSARGDYFRATSRLTTDFHNAEKTNRVFMREINDRIMKVEYHFLSPYVSPRESPRHI
FWGSGSHTLSALVENLKLRLQKNITAFNETLFRNQLALATWTIQGVANALSGDIWNIDNE
F (SEQ ID NO: 231).

[00067] **2'-модифицированный нуклеозид**: В рамках изобретения термины "2'-модифицированный нуклеозид" и "2'-модифицированный рибонуклеозид" используют взаимозаменяемо, и они относятся к нуклеозиду, имеющему остаток сахара, модифицированный по 2'-положению. В некоторых вариантах осуществления 2'-модифицированный нуклеозид является 2'-4'-бициклическим нуклеозидом, где 2'- и 4'-положения сахара соединены мостиком (например, с помощью метилена, этилена или (S)-затрудненного этила). В некоторых вариантах осуществления 2'-модифицированный нуклеозид является небциклическим 2'-модифицированным нуклеозидом, например, где 2'-положение остатка сахара является замещенным. Неограничивающие примеры 2'-модифицированных нуклеозидов включают: 2'-дезоксид-, 2'-фтор- (2'-F), 2'-О-метил- (2'-O-Me), 2'-О-метоксиэтил- (2'-МОЕ), 2'-О-аминопропил- (2'-O-AP), 2'-О-диметиламиноэтил- (2'-O-DMAOE), 2'-О-диметиламинопропил- (2'-O-DMAP), 2'-О-диметиламиноэтилоксиэтил- (2'-O-DMAEOE), 2'-О-N-метилацетамидонуклеозид (2'-O-NMA), замкнутую нуклеиновую кислоту (ЗНК, нуклеиновую кислоту с метиленовым мостиком), нуклеиновую кислоту с этиленовым мостиком (ЕНА) и нуклеиновую кислоту с (S)-затрудненным этилом (сEt). В некоторых вариантах осуществления 2'-модифицированные нуклеозиды, представленные в настоящем описании, являются высокоаффинными модифицированными нуклеотидами, и олигонуклеотиды, содержащие 2'-модифицированные нуклеотиды, имеют повышенную аффинность к последовательностям-мишеням относительно немодифицированного олигонуклеотида. Примеры структур 2'-модифицированных нуклеозидов приведены ниже:



II. Антитела против TfR

[00068] В некоторых вариантах осуществления средства, связывающиеся с рецептором трансферрина, например, антитела против TfR, способны к таргетингу мышечной клетки и/или (например, и) могут опосредовать транспорт средства через гематоэнцефалитический барьер. Рецепторы трансферрина являются интернализирующимися рецепторами поверхности клетки, транспортирующими трансферрин через клеточную мембрану и участвующие в регуляции и гомеостазе внутриклеточных уровней железа. Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к рецептор трансферрина-связывающим белкам, способным связываться с рецептором трансферрина. Антитела, связывающиеся, например специфически связывающиеся, с рецептором трансферрина, могут интернализироваться в клетках, например, посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза после связывания с рецептором трансферрина.

[00069] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к антителам, связывающимся с рецептором трансферрина с высокой специфичностью и аффинностью. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, специфически связывается с любым внеклеточным эпитопом рецептора трансферрина или эпитопом, становящимся экспонированным для антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, специфически связываются с рецептором трансферрина человека, не являющихся человеком приматов, мыши, крысы и т.д. В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, связываются с рецептором трансферрина человека. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, связывается с аминокислотным сегментом рецептора трансферрина человека или не являющегося человеком примата, приведенным в SEQ ID NO: 228-231. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, связывается с аминокислотным сегментом, соответствующим аминокислотам 90-96 рецептора трансферрина человека, приведенным в SEQ ID NO: 228, не являющимся апикальным доменом рецептора трансферрина.

[00070] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR специфически связывается с TfR1 (например, TfR1 человека или не являющегося человеком примата) с аффинностью связывания (например, на что указывает K_d) по меньшей мере приблизительно 10^{-4} М, 10^{-5} М, 10^{-6} М, 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М, 10^{-12} М, 10^{-13} М или менее. В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, связываются с TfR1 с KD в субнаномолярном диапазоне. В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, селективно связываются с рецептором трансферрина 1 (TfR1), но не рецептором трансферрина 2 (TfR2). В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, связываются с TfR1 человека и TfR1 яванского макака (например, с K_d of 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М, 10^{-12} М, 10^{-13} М или менее), но не TfR1 мыши. Аффинность и кинетику связывания антитела против TfR можно тестировать любым подходящим способом, включая, в качестве

неограничивающих примеров, биосенсорную технологию (например, OCTET или BIACORE). В некоторых вариантах осуществления связывание любого из антител против TfR, представленных в настоящем описании, не конкурирует или ингибирует связывание трансферрина с TfR1. В некоторых вариантах осуществления связывание любого из антител против TfR, представленных в настоящем описании, не конкурирует или ингибирует связывание HFE-бета-2-микроглобулина с TfR1.

[00071] Последовательности переменных доменов тяжелой цепи и легкой цепи и CDR неограничивающих примеров антител против TfR приведены в таблице 1.

Таблица 1. Примеры антител против TfR1 (CDR определены по системе IMGT®)

Ab	CDR	Вариабельные домены
3-A4	CDR-H1: GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	VH EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKD DYMYWVKQRPEQGLEWIGWIDPENGDTTEYA SKFQDKATVTADTSSNTAYLQSSLTSEDYAV YYCTLWLRRLDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 7)
	CDR-H2: IDPENGDT (SEQ ID NO: 2)	
	CDR-H3: TLWLRRLDY (SEQ ID NO: 3)	
	CDR-L1: KSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 4)	VL DIVMTQAAPSVPTPGESVSISCRSSKSLLSH NYTYLFWFLQRPQSPQLLIYRMSNLASGVP DRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 8)
	CDR-L2: RMS (SEQ ID NO: 5)	
	CDR-L3: MQHLEYPT (SEQ ID NO: 6)	
3-M12	CDR-H1: GYSITSGYY (SEQ ID NO: 9)	VH DVQLQESGPGLVKPSQSLTCSVTGYSITSG YYWNWIRQFPGNKLEWMGYITFDGANNY NP SLKNRISITRDTSKNQFFLKLTSVTTEDTATYY CTRSSYDYDVLVDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 15)
	CDR-H2: ITFDGAN (SEQ ID NO: 10)	
	CDR-H3: TRSSYDYDVLVDY (SEQ ID NO: 11)	
	CDR-L1: QDISNF (SEQ ID NO: 12)	VL DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISN FL NWYQQRPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSG
CDR-L2:		

	YTS (SEQ ID NO: 13)	SGSGTDFSLTVSNLEQEDIATYFCQQGHTLPY
	CDR-L3: QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 14)	TFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 16)
5-H12	CDR-H1: GYSFTDYC (SEQ ID NO: 17)	VH QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDY
	CDR-H2: IYPGSGNT (SEQ ID NO: 18)	CINWVNQRPGQGLEWIGWIYPGSGNTRYSER FKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVY
	CDR-H3: AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 19)	FCAREDYYPYHGMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 23)
	CDR-L1: ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 20)	VL DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGY DNSFMHWYQQKPGQPPKLLIFRASNLESGIPA
	CDR-L2: RAS (SEQ ID NO: 21)	RFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSS EDPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 24)
	CDR-L3: QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 22)	
8-K6	CDR-H1: GYTFTSYW (SEQ ID NO: 25)	VH QVHLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTS YWITWVKQRPGQGLEWIGDIFPNSGRRTNYDE
	CDR-H2: IFPNSGRT (SEQ ID NO: 26)	KFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVY FCAREGNFGSLDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 31)
	CDR-H3: AREGNFGSLDY (SEQ ID NO: 27)	
	CDR-L1: SNLNY (SEQ ID NO: 28)	VL QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSANSNLNY
	CDR-L2: DTS (SEQ ID NO: 29)	MNWHYHQSGTSPKRWIYDTSKLASGVPARFS ASGSGTYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSRN
	CDR-L3: QQWSRNPLT (SEQ ID NO: 30)	PLTFGAGTRLELK (SEQ ID NO: 32)

9-K23	CDR-H1: GFSLNTYDVG (SEQ ID NO: 33)	VH QVTLKESGPGMLQPSQTLSTCSFSGFSLNTY DVGVGWIRQPSGKGLEWLANIWWNDDKYY
	CDR-H2: IWWNDDK (SEQ ID NO: 34)	NSALKSRLTISKDTSNNQVFLKISSVDTADTA TYYCTLYSYDGGFAYWGQGLVTVSA (SEQ ID NO: 39)
	CDR-H3: TLYSYDGGFAY (SEQ ID NO: 35)	
	CDR-L1: SSVSSSY (SEQ ID NO: 36)	VL QIVLTQSPAIMSASLGERVTMTCTASSSVSSSY
	CDR-L2: STS (SEQ ID NO: 37)	LHWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFS GSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQYHRSP
	CDR-L3: HQYHRSPYT (SEQ ID NO: 38)	YTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 40)
	3-E5	CDR-H1: GYSFTGYN (SEQ ID NO: 41)
CDR-H2: INPYYGST (SEQ ID NO: 42)		NMNWVKQSHGKSLEWIGNINPYYGSTGYNQ KFKGKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAV
CDR-H3: ARGDYGYDEGTWFAY (SEQ ID NO: 43)		YYCARGDYGYDEGTWFAYWGQGLVTVSA (SEQ ID NO: 47)
CDR-L1: QLLNSRTRKNY (SEQ ID NO: 44)		VL DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLNS
CDR-L2: WAS (SEQ ID NO: 45)		RTRKNYLAWYQQKPEQSPKLLIYWASTRESG VPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCK
CDR-L3: KQSYNLPFT (SEQ ID NO: 46)		QSYNLPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 48)
6-D3	CDR-H1: GYTFTRHW (SEQ ID NO: 49)	VH QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFT RHWITWVKQRPGQGLEWIGDIYPGSGRTNYN
	CDR-H2:	EKFKSTATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAV

	IYPGSGRT (SEQ ID NO: 50)	YYCARDGYLYINYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 54)
	CDR-H3: ARDGYLYINYFDY (SEQ ID NO: 51)	
	CDR-L1: SSVSF (SEQ ID NO: 52)	VL ENVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSFM
	CDR-L2: DTS (SEQ ID NO: 29)	HWFQKKSSTSPKLWIYDTSKSLASGVPGRFSGS GSGSSYSLTISSMAAEDVATYYCFQGS GYPYT
	CDR-L3: FQGS GYPYT (SEQ ID NO: 53)	FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 55)
4-O12	CDR-H1: GFNIVDDY (SEQ ID NO: 56)	VH EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIVD
	CDR-H2: IYPENADT (SEQ ID NO: 57)	DYMHWVKQRPEQGLEWIGWIYPENADTEYA SKFQ GKATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAV
	CDR-H3: TTATGTGWFAY (SEQ ID NO: 58)	YYCTTATGTGWFAYWGQGTTLTVSA (SEQ ID NO: 62)
	CDR-L1: QSLLDSDGKTY (SEQ ID NO: 59)	VL DVVMTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLDSD GKTYLNWLFQRPGQSPKRLIYLVSKLDSGVP
	CDR-L2: LVS (SEQ ID NO: 60)	DRFTGSGSGTDFTLKISRVEDLGVYYCWQ GTHFPWTFGGGAKLEIK (SEQ ID NO: 63)
	CDR-L3: WQGTHFPWT (SEQ ID NO: 61)	
4-C5	CDR-H1: GYTFSNYW (SEQ ID NO: 64)	VH QVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYTFSN YWIEWVKQRPGHGLEWIGEILPGSGSTNYNE
	CDR-H2: ILPGSGST (SEQ ID NO: 65)	NFKGKATFTADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAV YYCARRGAYGNFHYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 70)
	CDR-H3: ARRGAYGNFHY (SEQ ID NO: 66)	

	CDR-L1: SSISSN (SEQ ID NO: 67)	VL EIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNL
	CDR-L2: GTS (SEQ ID NO: 68)	HWYQQKSETSPKPWIYGTSNLASGVVRFSG SGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWRSYP
	CDR-L3: QQWRSYPYT (SEQ ID NO: 69)	YTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 71)
10-P5	CDR-H1: GYTFTDYN (SEQ ID NO: 72)	VH EVQLQQFGAELVKPGASVKISCKASGYTFTD
	CDR-H2: INPNYDTT (SEQ ID NO: 73)	YNMAWVKESHGKSLEWIGDINPNYDTTSYN QKFKGKATLTVDKSSSTAHMELRSLTSEGTA
	CDR-H3: ARSGYYGSSYYWHFDV (SEQ ID NO: 74)	VYYCARSGYYGSSYYWHFDVWGTGTTVTVS S (SEQ ID NO: 77)
	CDR-L1: QSLLYSSNQKNY (SEQ ID NO: 75)	VL DIVMSQSPSSLA VSVGEKVTMSCKSSQSLLYS SNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESG
	CDR-L2: WAS (SEQ ID NO: 45)	VPDRFTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLAVYYCQ QYYNYPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 78)
	CDR-L3: QQYYNYPFT (SEQ ID NO: 76)	
2-H19	CDR-H1: GFNIKDY (SEQ ID NO: 79)	VH EVQLQQSGAELVRSYGASVKLSCTASGFNIKD
	CDR-H2: IDPESGDT (SEQ ID NO: 80)	YYMHVVKQRPEQGLEWIGWIDPESGDTEYA PKFQGRATMTADTSSNTAYMQLSSLTSEDTA
	CDR-H3: YGHDIRVDC (SEQ ID NO: 81)	VYYCYGHDIRVDCWGGQTSVTVSS (SEQ ID NO: 85)
	CDR-L1: QSLVHSNGNTY (SEQ ID NO: 82)	VL DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGV
	CDR-L2: KVS (SEQ ID NO: 83)	PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYFCSQ STHIPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 86)

	CDR-L3: SQSTHIPWT (SEQ ID NO: 84)	
3-F3	CDR-H1: GYTFTDYN (SEQ ID NO: 72)	VH EVQLQQFGAELVKPGASVKISCKASGYTFTD
	CDR-H2: INPNYDST (SEQ ID NO: 87)	YNMGWVKQSHGKSLEWIGDINPNYDSTS YTKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTA
	CDR-H3: ARSGYYGSSYYWHFDV (SEQ ID NO: 74)	VYYCARSGYYGSSYYWHFDVWGTGTTVTVS S (SEQ ID NO: 89)
	CDR-L1: QSLLYSSNQKNY (SEQ ID NO: 75)	VL DIVMSQSPSSLA VSVGEKVTMSCKSSQSLLYS
	CDR-L2: WAS (SEQ ID NO: 45)	SNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRESG VPDRFTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLAVYYCQ
	CDR-L3: QQYYHYPFT (SEQ ID NO: 88)	QYYHYPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 90)
8-O17	CDR-H1: GFSLTNYG (SEQ ID NO: 91)	VH QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTNY
	CDR-H2: IWNDGSA (SEQ ID NO: 92)	GVHWVRQPPGKGLEWLVVIWNDGSATYN SALESRLSISKDNSKSVFLKMNSLQTDDTAMY
	CDR-H3: ARHESSNPFAY (SEQ ID NO: 93)	YCARHESSNPFAYWGQGLVTVSA (SEQ ID NO: 97)
	CDR-L1: QSIGTS (SEQ ID NO: 94)	VL DILLTQSPAILS VSPGERVSFSCRASQSIGTSIH
	CDR-L2: SAS (SEQ ID NO: 95)	WYQQR TNGSPRLLIKSASESIAGIPSRFSGSGS
	CDR-L3: QQNNRWPYT (SEQ ID NO: 96)	GTDFTL SINSVESEDIADYYCQQNNRWPYTFG GGTKLEIK (SEQ ID NO: 98)
3-M9	CDR-H1: DFNIKDDY (SEQ ID NO: 99)	VH EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASDFNIKD

	CDR-H2: IDPANGNT (SEQ ID NO: 100)	DYIHWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTKYAP KFQDKATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVY YCALGYTYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO: 104)
	CDR-H3: ALGYTY (SEQ ID NO: 101)	
	CDR-L1: QSLLSYSGKTY (SEQ ID NO: 102)	VL DVVMTQTPLTSLSVTIGQPASISCKSSQSLLSY GKTYLNWLLQRPGQSPKLLIYLVSKLESGVP
	CDR-L2: LVS (SEQ ID NO: 60)	DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCLQT THFPQTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 105)
	CDR-L3: LQTTTFPQT (SEQ ID NO: 103)	
10-H2	CDR-H1: GFTFSDYG (SEQ ID NO: 106)	VH EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSAASGFTFSD YGMHWVRQGPEKGLEWVAYINSGSSTIYYA
	CDR-H2: INSGSSTI (SEQ ID NO: 107)	DTVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDTA MYYCARPGDYDNYAMDYWGQTSVTVSS (SEQ ID NO: 112)
	CDR-H3: ARPGDYDNYAMDY (SEQ ID NO: 108)	
	CDR-L1: QDVSV (SEQ ID NO: 109)	VL DIVMTQSHKFLSTSVGDRVSITCKASQDVSV
	CDR-L2: WAY (SEQ ID NO: 110)	VAWYQKPGQSPKLLIYWAYTRHTGVPDRF TGSGSGTEYTLTISSVQAEDLALYYCQQHYN
	CDR-L3: QQHYNTPPWT (SEQ ID NO: 111)	TPPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 113)
4-J22	CDR-H1: GFNIKDY (SEQ ID NO: 79)	VH EVQLQQSGAELVRSVASVLSCTASGFNIKD
	CDR-H2: IDPENADT (SEQ ID NO: 114)	YIHWVKQRPEQGLEWIGWIDPENADTEYAP KFQDKATMTPDTSSNTAYLQLSSLTSEDNAVY YYCYAWDYSMDYWGQTSVTVSS (SEQ ID NO: 117)
	CDR-H3:	

	YAWDYSMDY (SEQ ID NO: 115)	
	CDR-L1: QSLVHSNGNTY (SEQ ID NO: 82)	VL DVVMTQTPLSLSVSLGDQASISCRSSQSLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGV
	CDR-L2: KVS (SEQ ID NO: 83)	PDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYFCSQN THVPYTFGGGTRLEIK (SEQ ID NO: 118)
	CDR-L3: SQNTHVPYT (SEQ ID NO: 116)	
9-D4	CDR-H1: GFTFTDYG (SEQ ID NO: 119)	VH QVQLQQSGTELARPGASVKLSCKASGFTFTD YGINWVKQRTGQGLEWIGEIYPSSGNSYYNE
	CDR-H2: IYPSSGNS (SEQ ID NO: 120)	KFKAKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAV YFCARSTYYGSPIDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 124)
	CDR-H3: ARSTYYGSPIDY (SEQ ID NO: 121)	
	CDR-L1: QDVDTT (SEQ ID NO: 122)	VL DIVMTQSHKFMSTPVGDRVSITCKASQDVDT
	CDR-L2: WAS (SEQ ID NO: 45)	TVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRQIGVPDRF TGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSTY
	CDR-L3: QQYSTYPLT (SEQ ID NO: 123)	PLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 125)
8-D15	CDR-H1: GFSLTSYA (SEQ ID NO: 126)	VH QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTSYA ITWVRQSPGKGLEWLG LIWTGGGTNYNSALK
	CDR-H2: IWTGGGT (SEQ ID NO: 127)	SRLSISKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTARYYC ARIYDGYRYFDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO: 132)
	CDR-H3: ARIYDGYRYFDV (SEQ ID NO: 128)	
	CDR-L1:	VL

	QSVSND (SEQ ID NO: 129)	RIVLTQTPKFLVLSAGDRVTMTCKASQSVSN
	CDR-L2: YAS (SEQ ID NO: 130)	DVAWYQQKPGQSPKLLIYYASNRYTGVPDRF TGSGYGTDFTFITSTVQAEDLAVYFCQQDYSS
	CDR-L3: QQDYSSPWT (SEQ ID NO: 131)	PWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 133)
4-H4	CDR-H1: GFNIKDY (SEQ ID NO: 79)	VH EVQLQQSGAELVRS GASVKLSCTASGFNIKD
	CDR-H2: IDPENGDT (SEQ ID NO: 2)	YYMHVVKQRPEQGLDWIGWIDPENGDT EYA PKFQGKATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTA
	CDR-H3: NVLTMPTAY (SEQ ID NO: 134)	VYYCNVLTMP TAYWGQGT LVTVSA (SEQ ID NO: 136)
	CDR-L1: QSLLYSSNQKNY (SEQ ID NO: 75)	VL DIVMSQSPSSLA VSVGEKVIMSC KSSQSLLYS SNQKNYLA WYQQKPGQSPKLLIYWASTRESG
	CDR-L2: WAS (SEQ ID NO: 45)	VPDRFTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLAVYYCQ QYYSYPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 137)
	CDR-L3: QQYYSYPYT (SEQ ID NO: 135)	
9-C4	CDR-H1: GFTFSSYG (SEQ ID NO: 138)	VH EVQLMESGGDLVKPGGSLKLS CAASGFTFSS YGLSWVRQTPDKRLEWVATITSGGSYTYYPD
	CDR-H2: ITSGGSYT (SEQ ID NO: 139)	SVKGRFTISRDNARNTLYLQMFS LKSED TAM YYCALWSLDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 143)
	CDR-H3: ALWSLDY (SEQ ID NO: 140)	
	CDR-L1: SSLSY (SEQ ID NO: 141)	VL QIVLTQSPA IMSASPGEKVTMTCSANSSLSYM
	CDR-L2: DTS (SEQ ID NO: 29)	HWYQQKPGTSPKRWIYDTSELASGVPARFSG SGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQRRSYP
	CDR-L3: HQRRSYPWT (SEQ ID NO: 144)	WTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 144)

142)

[00072] В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR по настоящему изобретению содержат одну или более из аминокислотных последовательностей CDR-H (например, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3) из любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1. В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR по настоящему изобретению содержат CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, приведенных для любого из антител, выбранных из таблицы 1. В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR по настоящему изобретению содержат одну или более из аминокислотных последовательностей CDR-L (например, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) из любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1. В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR по настоящему изобретению содержат CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, приведенных для любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1.

[00073] В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR по настоящему изобретению содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, приведенные для любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1. В некоторых вариантах осуществления домены CDR3 тяжелой и легкой цепи антитела могут играть особенно важную роль в специфичности/аффинности связывания антитела с антигеном. Таким образом, антитела против TfR по настоящему изобретению могут включать по меньшей мере CDR3 тяжелой и/или (например, и) легкой цепи любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1.

[00074] В некоторых примерах любое из антител против TfR по изобретению имеют одну или более последовательностей CDR (например, CDR-H или CDR-L), по существу, схожих с любой из последовательностей CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и/или (например, и) CDR-L3 из одного из антител против TfR, выбранных из таблицы 1. В некоторых вариантах осуществления положение одной или более CDR в области VH (например, CDR-H1, CDR-H2 или CDR-H3) и/или (например, и) VL (например, CDR-L1, CDR-L2 или CDR-L3) антитела, представленного в настоящем описании, может варьироваться на одну, две, три, четыре, пять или шесть положений аминокислот при условии, что иммуноспецифическое связывание с рецептором трансферрина (например, рецептором трансферрина человека) сохраняется (например, сохраняется в достаточной степени, например, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% связывания исходного антитела, из которого его получают). Например, в некоторых вариантах осуществления положение, определяющее CDR любого антитела, представленного в настоящем описании, может варьироваться в результате сдвига N-концевой и/или (например, и) C-концевой границы CDR на одну, две, три, четыре, пять или шесть аминокислот относительно положения CDR любого из антител, представленных в настоящем описании, при условии, что иммуноспецифическое связывание с рецептором трансферрина (например, рецептором трансферрина человека)

сохраняется (например, сохраняется в достаточной степени, например, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% связывания исходного антитела, из которого его получают). В другом варианте осуществления длина одной или более CDR в области VH (например, CDR-H1, CDR-H2 или CDR-H3) и/или (например, и) VL (например, CDR-L1, CDR-L2 или CDR-L3) антитела, представленного в настоящем описании, может варьироваться (например, быть меньше или больше) на одну, две, три, четыре, пять или более аминокислот, при условии, что иммуноспецифическое связывание с рецептором трансферрина (например, рецептором трансферрина человека) сохраняется (например, сохраняется в достаточной степени, например, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% связывания исходного антитела, из которого его получают).

[00075] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и/или (например, и) CDR-H3, представленные в настоящем описании, могут являться на одну, две, три, четыре, пять или более аминокислот короче одной или более из CDR, представленных в настоящем описании (например, CDR из любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1) при условии, что иммуноспецифическое связывание с рецептором трансферрина (например, рецептором трансферрина человека) сохраняется (например, по существу сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% относительно связывания с исходным антителом, из которого оно получено). В некоторых вариантах осуществления CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и/или (например, и) CDR-H3, представленные в настоящем описании, могут являться на одну, две, три, четыре, пять или более аминокислот длиннее одной или более из CDR, представленных в настоящем описании (например, CDR из любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1) при условии, что иммуноспецифическое связывание с рецептором трансферрина (например, рецептором трансферрина человека) сохраняется (например, по существу сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% относительно связывания с исходным антителом, из которого оно получено). В некоторых вариантах осуществления аминоконцевую часть CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и/или (например, и) CDR-H3, представленных в настоящем описании, можно удлинять на одну, две, три, четыре, пять или более аминокислот по сравнению с одной или более из CDR, представленных в настоящем описании (например, CDR из любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1) при условии, что иммуноспецифическое связывание с рецептором трансферрина (например, рецептором трансферрина человека) сохраняется (например, по существу сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% относительно связывания с исходным антителом, из которого оно

получено). В некоторых вариантах осуществления карбокси-концевую часть CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и/или (например, и) CDR-H3, представленных в настоящем описании, можно удлинять на одну, две, три, четыре, пять или более аминокислот по сравнению с одной или более из CDR, представленных в настоящем описании (например, CDR из любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1) при условии, что иммуноспецифическое связывание с рецептором трансферрина (например, рецептором трансферрина человека) сохраняется (например, по существу сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% относительно связывания с исходным антителом, из которого оно получено). В некоторых вариантах осуществления аминоконцевую часть CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и/или (например, и) CDR-H3, представленных в настоящем описании, можно укорачивать на одну, две, три, четыре, пять или более аминокислот по сравнению с одной или более из CDR, представленных в настоящем описании (например, CDR из любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1) при условии, что иммуноспецифическое связывание с рецептором трансферрина (например, рецептором трансферрина человека) сохраняется (например, по существу сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% относительно связывания с исходным антителом, из которого оно получено). В некоторых вариантах осуществления карбокси-концевую часть CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и/или (например, и) CDR-H3, представленных в настоящем описании, можно укорачивать на одну, две, три, четыре, пять или более аминокислот по сравнению с одной или более из CDR, представленных в настоящем описании (например, CDR из любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1) при условии, что иммуноспецифическое связывание с рецептором трансферрина (например, рецептором трансферрина человека) сохраняется (например, по существу сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% относительно связывания с исходным антителом, из которого оно получено). Для определения того, сохраняется ли иммуноспецифическое связывание с рецептором трансферрина (например, рецептором трансферрина человека), можно использовать любой способ, например, с использованием анализов связывания и условий, описанных в этой области.

[00076] В некоторых примерах любые из антител против TfR по изобретению имеют одну или более последовательностей CDR (например, CDR-H или CDR-L), по существу схожие с любым из антител против TfR, выбранных из таблицы 1. Например, антитела могут включать одну или более последовательностей CDR из любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1, содержащих до 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислотных остатков по сравнению с соответствующей областью CDR в любой из CDR, представленных в настоящем описании (например, CDR из любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1) при условии, что иммуноспецифическое

связывание с рецептором трансферрина (например, рецептором трансферрина человека) сохраняется (например, по существу сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% относительно связывания с исходным антителом, из которого оно получено). В некоторых вариантах осуществления любые из изменений аминокислот в любых из CDR, представленных в настоящем описании, могут являться консервативными изменениями. Консервативные изменения можно вносить в CDR в положениях, в которых остатки, вероятно, не будут вовлечены во взаимодействие с белком рецептора трансферрина (например, белком рецептора трансферрина человека), например, что определяют на основе кристаллической структуры. Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к антителам против TfR, содержащим один или более из переменных доменов тяжелой цепи (VH) и/или (например, и) переменных доменов легкой цепи (VL), представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления любые из доменов VH, представленных в настоящем описании, включают одну или более из последовательностей CDR-H (например, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), представленных в настоящем описании, например, любых из последовательностей CDR-H, представленных в любом из антител против TfR, выбранных из таблицы 1. В некоторых вариантах осуществления любые из доменов VL, представленных в настоящем описании, включают одну или более из последовательностей CDR-L (например, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), представленных в настоящем описании, например, любых из последовательностей CDR-L, представленных в любом из антител против TfR, выбранных из таблицы 1.

[00077] В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR по изобретению включают любое антитело, включающее переменный домен тяжелой цепи и/или (например, и) переменный домен легкой цепи любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1, и их варианты. В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR по изобретению включают любое антитело, включающее пары переменной области тяжелой цепи и переменной области легкой цепи любых антител против TfR, выбранных из таблицы 1.

[00078] Аспекты настоящего изобретения относятся к антителам против TfR, имеющим аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH) и/или (например, и) переменного домена легкой цепи (VL), гомологичную любой из последовательностей, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи или последовательность переменного домена легкой цепи, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной последовательности переменного домена тяжелой цепи и/или любой последовательности переменного домена легкой цепи любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1. В некоторых вариантах осуществления гомологичные аминокислотные последовательности переменного домена тяжелой цепи и/или

(например, и) вариабельного домена легкой цепи не варьируются в любых из последовательностей CDR, представленных в настоящем описании. Например, в некоторых вариантах осуществления степень изменения последовательности (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) может относиться к последовательности вариабельного домена тяжелой цепи и/или (например, и) последовательности вариабельного домена легкой цепи, за исключением любых из последовательностей CDR, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления любые из антител против TfR, представленные в настоящем описании, содержат последовательность вариабельного домена тяжелой цепи и последовательность вариабельного домена легкой цепи, содержащие каркасную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентичной каркасной последовательности любых антител против TfR, выбранных из таблицы 1.

[00079] В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR по настоящему изобретению могут связываться с антигеном-мишенью (например, рецептором трансферрина) с относительно высокой аффинностью, например, с K_D менее 10^{-6} М, 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М или менее. Например, антитела против TfR по настоящему изобретению могут связываться с белком рецептора трансферрина (например, рецептора трансферрина человека) с аффинностью от 5 пМ до 500 нМ, например, от 50 пМ до 100 нМ, например, от 500 пМ до 50 нМ. Настоящее изобретение также включает антитела, конкурирующие с любыми из антител, представленных в настоящем описании, за связывание с белком рецептора трансферрина (например, рецептором трансферрина человека), и имеющие аффинность 50 нМ или менее (например, 20 нМ или менее, 10 нМ или менее, 500 пМ или менее, 50 пМ или менее или 5 пМ или менее). Аффинность и кинетику связывания антитела против TfR можно тестировать любым подходящим способом, включая в качестве неограничивающих примеров биосенсорную технологию (например, ОСТЕТ или BIACORE).

[00080] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит домен VL и/или (например, и) домен VH любого из антител против TfR, выбранных из таблицы 1, и содержит константную область, содержащую аминокислотные последовательности константных областей молекул иммуноглобулина IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY любого класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или любого подкласса (например, IgG2a и IgG2b) молекулы иммуноглобулина. В этой области описаны неограничивающие примеры константные области человека, например, см. Kabat E A et al., (1991) выше.

[00081] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 вариабельного домена тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 вариабельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

[00082] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 (по системе определения IMGT).

[00083] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1; CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 с заменой аминокислоты в положении 5 (например, аспарагин в положении 5 замещен, например, любой из Arg (R), Lys (K), Asp (D), Glu (E), Gln (Q), His (H), Ser (S), Thr (T), Tyr (Y), Cys (C), Trp (W), Met (M), Ala (A), Ile (I), Leu (L), Phe (F), Val (V), Pro (P), Gly (G)); и CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления замена аминокислоты в положении 5 CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 2, представляет собой N5T или N5S.

[00084] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1; CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 233 или SEQ ID NO: 80; и CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.

[00085] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 233 или SEQ ID NO: 80, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3. В рамках изобретения термин "в совокупности" означает, что общее количество изменений аминокислот во всех

трех CDR тяжелой цепи находится в определенном диапазоне. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против T_HR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.

[00086] В некоторых вариантах осуществления антитело против T_HR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 233 или SEQ ID NO: 80, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против T_HR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.

[00087] В некоторых вариантах осуществления антитело против T_HR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 233 или SEQ ID NO: 80; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против T_HR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.

[00088] В некоторых вариантах осуществления антитело против T_HR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7. Альтернативно или дополнительно (например,

дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

[00089] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 7. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 8.

[00090] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 7. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 8.

[00091] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, приведенный в SEQ ID NO: 7 с заменой аминокислоты в положении 55 (например, аспарагин в положении 55 замещен, например, любой из Arg (R), Lys (K), Asp (D), Glu (E), Gln (Q), His (H), Ser (S), Thr (T), Tyr (Y), Cys (C), Trp (W), Met (M), Ala (A), Ile (I), Leu (L), Phe (F), Val (V), Pro (P), Gly (G)). Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, приведенный в SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления замена аминокислоты в положении 55 VH, приведенного в SEQ ID NO: 7, представляет собой N55T или N55S. Положению аминокислоты 55 в SEQ ID NO: 7 приписан номер 54, если VH, приведенный в SEQ ID NO: 7, аннотирован с использованием системы нумерации Kabat. Когда в настоящем описании ссылаются на N54T или N54S, это относится к мутациям при использовании системы нумерации Kabat.

[00092] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий замену аминокислоты в положении 64 относительно SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий Met в положении, соответствующем положению 64 в SEQ ID NO: 7. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 80% (например, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 8.

[00093] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, приведенную как GYSITSGYX₁ (SEQ ID NO: 286), в которой X₁ может являться Y или G; CDR-H2, приведенную как IX₂FDGX₃X₄ (SEQ ID NO: 287), в которой X₂ может являться T или N, X₃ может являться A или N, и X₄ может являться N, T или S; и CDR-H3, приведенную как X₅RX₆X₇YDYDX₈X₉DX₁₀ (SEQ ID NO: 288), где X₅ является T или A, X₆ является S, F или I, X₇ является S, N или Y, X₈ является P, Y или V, X₉ является I, F или L, и X₁₀ является Y или F. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, приведенную как QDIX₁₁NX₁₂ (SEQ ID NO: 289), в которой X₁₁ является S или T, и X₁₂ является F, C, S или Y; CDR-L2, приведенную как YTS (SEQ ID NO: 13), и CDR-L3, приведенную как QQGX₁₃X₁₄X₁₅PX₁₆T (SEQ ID NO: 290), в которой X₁₃ является H или N, X₁₄ является T или A, X₁₅ является L или Y, и X₁₆ является Y, W или F.

[00094] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, приведенные как CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 в таблице 11. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, приведенные как CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 в таблице 11.

[00095] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 переменного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 переменного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16.

[00096] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 (по системе определения IMGT).

[00097] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. Альтернативно или дополнительно (например,

дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

[00098] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

[00099] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

[000100] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15. Альтернативно или дополнительно (например,

дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16.

[000101] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 15. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 16.

[000102] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 15. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 16.

[000103] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24.

[000104] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22 (по системе определения IMGT).

[000105] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 с заменой аминокислоты в положении 8 (например, цистеин в положении 8 заменен, например, любой из Arg (R), Lys (K), Asp (D), Glu (E), Gln (Q), His (H), Ser (S), Thr (T), Tyr (Y), Asn (N), Trp (W), Met (M), Ala (A), Ile (I), Leu (L), Phe (F), Val (V), Pro (P), Gly (G)); CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и CDR-H3, имеющую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 19. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления замена аминокислоты в положении 8 CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 17, представляет собой C8D или C8Y.

[000106] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 237 или SEQ ID NO: 239; CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

[000107] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 237 или SEQ ID NO: 239, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

[000108] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 237 или SEQ ID NO: 239, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, CDR-L2, имеющей аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

[000109] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 237 или SEQ ID NO: 239; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

[000110] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24.

[000111] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 24.

[000112] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность,

являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 24.

[000113] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, приведенный в SEQ ID NO: 23 с заменой аминокислоты в положении 33 (например, цистеин в положении 33 заменен, например, любой из Arg (R), Lys (K), Asp (D), Glu (E), Gln (Q), His (H), Ser (S), Thr (T), Tyr (Y), Asn (N), Trp (W), Met (M), Ala (A), Ile (I), Leu (L), Phe (F), Val (V), Pro (P), Gly (G)). Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, приведенный в SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления замена аминокислоты в положении 33 VH, приведенного в SEQ ID NO: 23, представляет собой C33D или C33Y. Аминокислоте 33 в SEQ ID NO: 23 присвоен номер 33, если VH, приведенный в SEQ ID NO: 23, аннотирован с использованием системы нумерации Kabat.

[000114] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32.

[000115] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30 (по системе определения IMGT).

[000116] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, CDR-L2, имеющей

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30.

[000117] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30.

[000118] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30.

[000119] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32.

[000120] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,

3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 31. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 32.

[000121] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 31. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 32.

[000122] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40.

[000123] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38 (по системе определения IMGT).

[000124] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36, CDR-L2, имеющей

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38.

[000125] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38.

[000126] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38.

[000127] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40.

[000128] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,

3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 39. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 40.

[000129] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 39. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 40.

[000130] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48.

[000131] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46 (по системе определения IMGT).

[000132] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44, CDR-L2, имеющей

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46.

[000133] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46.

[000134] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 43. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46.

[000135] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48.

[000136] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,

3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 47. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 48.

[000137] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 47. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 48.

[000138] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55.

[000139] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53 (по системе определения IMGT).

[000140] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, CDR-L2, имеющей

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53.

[000141] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53.

[000142] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53.

[000143] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55.

[000144] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,

3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 54. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 55.

[000145] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 54. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 55.

[000146] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63.

[000147] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61 (по системе определения IMGT).

[000148] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, CDR-L2, имеющей

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61.

[000149] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61.

[000150] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61.

[000151] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63.

[000152] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,

3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 62. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 63.

[000153] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 62. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 63.

[000154] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71.

[000155] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69 (по системе определения IMGT).

[000156] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, CDR-L2, имеющей

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69.

[000157] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69.

[000158] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69.

[000159] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71.

[000160] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,

3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 70. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 71.

[000161] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 70. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 71.

[000162] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 78.

[000163] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 73 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 74 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76 (по системе определения IMGT).

[000164] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 73, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 74. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75, CDR-L2, имеющей

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76.

[000165] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 73, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 74. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76.

[000166] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 73; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 74. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76.

[000167] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 78.

[000168] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,

3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 77. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 78.

[000169] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 77. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 78.

[000170] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86.

[000171] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 (по системе определения IMGT).

[000172] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82, CDR-L2, имеющей

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84.

[000173] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84.

[000174] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84.

[000175] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86.

[000176] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,

3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 85. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 86.

[000177] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 85. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 86.

[000178] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90.

[000179] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 74 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88 (по системе определения IMGT).

[000180] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 74. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75, CDR-L2, имеющей

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88.

[000181] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 74. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88.

[000182] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 74. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88.

[000183] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90.

[000184] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,

3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 89. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 90.

[000185] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 89. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 90.

[000186] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 97. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98.

[000187] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 91 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 93 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96 (по системе определения IMGT).

[000188] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 91, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 93. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94, CDR-L2, имеющей

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96.

[000189] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 91, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 93. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96.

[000190] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 91; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 93. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96.

[000191] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 97. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98.

[000192] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,

3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 97. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 98.

[000193] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 97. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 98.

[000194] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105.

[000195] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 100, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 101. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103.

[000196] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 100, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 101. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по

меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103.

[000197] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 100; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 101. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103.

[000198] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105.

[000199] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 104. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 105.

[000200] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 104. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по

настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 105.

[000201] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 113.

[000202] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 109 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111 (по системе определения IMGT).

[000203] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 109, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111.

[000204] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по

меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 109, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111.

[000205] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 109; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111.

[000206] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 113.

[000207] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 112. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 113.

[000208] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 112. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по

настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 113.

[000209] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 117. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 118.

[000210] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 114 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116 (по системе определения IMGT).

[000211] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 114, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116.

[000212] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 114, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными

CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116.

[000213] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 114; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116.

[000214] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 117. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 118.

[000215] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 117. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 118.

[000216] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 117. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную

последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 118.

[000217] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 124. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 125.

[000218] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 120 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 121 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 122 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 123 (по системе определения IMGT).

[000219] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 120, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 121. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 122, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 123.

[000220] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 120, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 121. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 122, CDR-L2,

имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 123.

[000221] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 120; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 121. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 122; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 123.

[000222] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 124. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 125.

[000223] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 124. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 125.

[000224] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 124. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную

последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 125.

[000225] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 132. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 133.

[000226] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 126 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 127 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 130 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 131 (по системе определения IMGT).

[000227] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 126, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 127, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 130, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 131.

[000228] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 126, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 127, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными

CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 130, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 131.

[000229] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 126; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 127; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 130; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 131.

[000230] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 132. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 133.

[000231] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 132. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 133.

[000232] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 132. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную

последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 133.

[000233] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 136. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137.

[000234] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 134 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 135 (по системе определения IMGT).

[000235] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 134. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 135.

[000236] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 134. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75, CDR-L2,

имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 135.

[000237] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 134. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 135.

[000238] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 136. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137.

[000239] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 136. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 137.

[000240] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 136. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную

последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 137.

[000241] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 варибельного домена тяжелой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 варибельного домена легкой цепи, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 144.

[000242] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 138 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 140 (по системе определения IMGT), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 141 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142 (по системе определения IMGT).

[000243] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 138, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 140. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 141, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142.

[000244] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 138, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 140. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 141, CDR-L2,

имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142.

[000245] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 138; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 140. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 141; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142.

[000246] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 144.

[000247] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 143. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 144.

[000248] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в SEQ ID NO: 143. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит VL, содержащий аминокислотную

последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в SEQ ID NO: 144.

[000249] CDR антитела могут иметь разные аминокислотные последовательности при использовании разных систем определения (например, определения по IMGT, определения по Kabat или определения по Chothia). С помощью системы определения аннотируют каждую аминокислоту в указанной последовательности антитела (например, последовательности VH или VL) с использованием номера, и номера, соответствующие CDR тяжелой цепи и легкой цепи, приведены в таблице 2. CDR, приведенные в таблице 1, определены по системе IMGT. Последовательности CDR примеров антител против TfR в соответствии с разными системами определения приведены в таблице 3. Специалист в этой области может получать последовательности CDR с использованием разных систем нумерации для антител против TfR, приведенных в таблице 1.

Таблица 2. Определения CDR

	IMGT¹	Kabat²	Chothia³
CDR-H1	27-38	31-35	26-32
CDR-H2	56-65	50-65	53-55
CDR-H3	105-116/117	95-102	96-101
CDR-L1	27-38	24-34	26-32
CDR-L2	56-65	50-56	50-52
CDR-L3	105-116/117	89-97	91-96

¹IMGT[®], The International ImMunoGeneTics information system[®], imgt.org, Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res., 27:209-212 (1999)

²Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242

³Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))

Таблица 3. Последовательности CDR примеров антител против TfR в соответствии с разными системами нумерации

	Номер	IMGT	Kabat	Chothia
3-A4	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 145)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 150)
	CDR-H2	IDPENGDT (SEQ ID NO: 2)	WIDPENGDT EYASK FQD (SEQ ID NO: 146)	ENG (SEQ ID NO: 151)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 147)	LRRGLD (SEQ ID NO: 152)
	CDR-L1	KSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLSHNGYTYL F (SEQ ID NO: 148)	SKSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 153)

	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 149)	RMS(SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 154)
3-A4 Вариант 1	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 145)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 150)
	CDR-H2	IDPETGDT (SEQ ID NO: 233)	WIDPETGDTEYASKF QD (SEQ ID NO: 234)	ETG (SEQ ID NO: 277)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 147)	LRRGLD (SEQ ID NO: 152)
	CDR-L1	KSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLSHNGYTYL F (SEQ ID NO: 148)	SKSLLSHNGYTY(S EQ ID NO: 153)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 149)	RMS(SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 154)
3-A4 Вариант 2	CDR-H1	GFNIKDDY (SEQ ID NO: 1)	DDYMY (SEQ ID NO: 145)	GFNIKDD (SEQ ID NO: 150)
	CDR-H2	IDPESGDT (SEQ ID NO: 80)	WIDPESGDTEYASKF QD (SEQ ID NO: 236)	ESG (SEQ ID NO: 278)
	CDR-H3	TLWLRRGLDY (SEQ ID NO: 3)	WLRRGLDY (SEQ ID NO: 147)	LRRGLD (SEQ ID NO: 152)
	CDR-L1	KSLLSHNGYTY (SEQ ID NO: 4)	RSSKSLLSHNGYTYL F (SEQ ID NO: 148)	SKSLLSHNGYTY(S EQ ID NO: 153)
	CDR-L2	RMS (SEQ ID NO: 5)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 149)	RMS(SEQ ID NO: 5)
	CDR-L3	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 6)	HLEYPF (SEQ ID NO: 154)
3-M12	CDR-H1	GYSITSGYY (SEQ ID NO: 9)	SGYYWN (SEQ ID NO: 155)	GYSITSGY (SEQ ID NO: 160)
	CDR-H2	ITFDGAN (SEQ ID NO: 10)	YITFDGANNYNPSLKN (SEQ ID NO: 156)	FDG (SEQ ID NO: 161)
	CDR-H3	TRSSYDYDVLDY (SEQ ID NO: 11)	SSYDYDVLDY (SEQ ID NO: 157)	SYDYDVLD (SEQ ID NO: 162)

	CDR-L1	QDISNF (SEQ ID NO: 12)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO: 158)	SQDISNF (SEQ ID NO: 163)
	CDR-L2	YTS (SEQ ID NO: 13)	YTSRLHS (SEQ ID NO: 159)	YTS (SEQ ID NO: 13)
	CDR-L3	QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 14)	QQGHTLPYT (SEQ ID NO: 14)	GHTLPY (SEQ ID NO: 164)
5-H12	CDR-H1	GYSFTDYC (SEQ ID NO: 17)	DYCIN (SEQ ID NO: 165)	GYSFTDY (SEQ ID NO: 170)
	CDR-H2	IYPGSGNT (SEQ ID NO: 18)	WIYPGSGNTRYSERF KG (SEQ ID NO: 166)	GSG (SEQ ID NO: 171)
	CDR-H3	AREDYYPYHGMD Y (SEQ ID NO: 19)	EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 167)	DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 172)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 20)	RASESVDGYDNSFM H (SEQ ID NO: 168)	SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 173)
	CDR-L2	RAS (SEQ ID NO: 21)	RASNLES (SEQ ID NO: 169)	RAS (SEQ ID NO: 21)
	CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 22)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 22)	SSEDPW (SEQ ID NO: 174)
5-H12 Вариант 1	CDR-H1	GYSFTDYY (SEQ ID NO: 237)	DYYIN (SEQ ID NO: 238)	GYSFTDY (SEQ ID NO: 170)
	CDR-H2	IYPGSGNT (SEQ ID NO: 18)	WIYPGSGNTRYSERF KG (SEQ ID NO: 166)	GSG (SEQ ID NO: 171)
	CDR-H3	AREDYYPYHGMD Y (SEQ ID NO: 19)	EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 167)	DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 172)
	CDR-L1	ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 20)	RASESVDGYDNSFM H (SEQ ID NO: 168)	SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 173)
	CDR-L2	RAS (SEQ ID NO: 21)	RASNLES (SEQ ID NO: 169)	RAS (SEQ ID NO: 21)
	CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 22)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 22)	SSEDPW (SEQ ID NO: 174)
5-H12 Вариант 2	CDR-H1	GYSFTDYD (SEQ ID NO: 239)	DYDIN (SEQ ID NO: 240)	GYSFTDY (SEQ ID NO: 170)
	CDR-H2	IYPGSGNT (SEQ ID NO: 18)	WIYPGSGNTRYSERF KG (SEQ ID NO: 166)	GSG (SEQ ID NO: 171)

CDR-H3	AREDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 19)	EDYYPYHGMDY (SEQ ID NO: 167)	DYYPYHGMD (SEQ ID NO: 172)
CDR-L1	ESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 20)	RASESVDGYDNSFMH (SEQ ID NO: 168)	SESVDGYDNSF (SEQ ID NO: 173)
CDR-L2	RAS (SEQ ID NO: 21)	RASNLES (SEQ ID NO: 169)	RAS (SEQ ID NO: 21)
CDR-L3	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 22)	QQSSEDPWT (SEQ ID NO: 22)	SSSEDPW (SEQ ID NO: 174)

[000250] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 145 (по системе определения Kabat), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 234 или SEQ ID NO: 236 (по системе определения Kabat), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 147 (по системе определения Kabat), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 148 (по системе определения Kabat), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 149 (по системе определения Kabat), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 (по системе определения Kabat).

[000251] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 145, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 234 или SEQ ID NO: 236, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 147. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 148, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 149, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.

[000252] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 145, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 234 или SEQ ID NO: 236, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 147. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в

совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 148, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 149, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.

[000253] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 145; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 234 или SEQ ID NO: 236; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 147. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 148; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 149; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.

[000254] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 150 (по системе определения Chothia), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 277 или SEQ ID NO: 278 (по системе определения Chothia), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 152 (по системе определения Chothia), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 153 (по системе определения Chothia), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 (по системе определения Chothia), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 (по системе определения Chothia).

[000255] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 150, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 277 или SEQ ID NO: 278, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 152. Альтернативно или

дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 153, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154.

[000256] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 150, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 277 или SEQ ID NO: 278, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 152. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 153, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154.

[000257] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 150; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 277 или SEQ ID NO: 278; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 152. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 153; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154.

[000258] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155 (по системе определения Kabat), CDR-H2, имеющую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156 (по системе определения Kabat), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 (по системе определения Kabat), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158 (по системе определения Kabat), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 159 (по системе определения Kabat), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 (по системе определения Kabat).

[000259] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 159, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

[000260] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 159, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

[000261] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с

CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 159; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

[000262] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160 (по системе определения Chothia), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 161 (по системе определения Chothia), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 162 (по системе определения Chothia), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 163 (по системе определения Chothia), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 (по системе определения Chothia), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 164 (по системе определения Chothia).

[000263] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 161, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 162. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 163, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 164.

[000264] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 161, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 162. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему

изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 163, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 164.

[000265] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 161; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 162. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 163; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 164.

[000266] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 238 или SEQ ID NO: 240 (по системе определения Kabat), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166 (по системе определения Kabat), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167 (по системе определения Kabat), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168 (по системе определения Kabat), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 169 (по системе определения Kabat), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22 (по системе определения Kabat).

[000267] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 238 или SEQ ID NO: 240, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167. Альтернативно или дополнительно

(например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 169, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

[000268] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 238 или SEQ ID NO: 240, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 169, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

[000269] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 238 или SEQ ID NO: 240; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 169; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

[000270] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, имеющую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 170 (по системе определения Chothia), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 171 (по системе определения Chothia), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 172 (по системе определения Chothia), CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 173 (по системе определения Chothia), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (по системе определения Chothia), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174 (по системе определения Chothia).

[000271] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 170, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 171, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 172. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 5 изменений аминокислот (например, не более 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 173, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174.

[000272] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 170, CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 171, и CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 172. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 173, CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174.

[000273] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-H1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 170; CDR-H2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 171; и/или (например, и) CDR-H3, имеющую не более 3 изменений

аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-H3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 172. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит: CDR-L1, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L1, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 173; CDR-L2, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L2, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; и/или (например, и) CDR-L3, имеющую не более 3 изменений аминокислот (например, не более 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с CDR-L3, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174.

[000274] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизированным антителом (например, гуманизированным вариантом, содержащим одну или более CDR из таблицы 1 или таблицы 3). В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, являющиеся теми же, что и CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, приведенные в в таблице 1 или таблице 3, и содержит гуманизованную переменную область тяжелой цепи и/или (например, и) гуманизованную переменную область легкой цепи.

[000275] Гуманизированные антитела являются иммуноглобулинами человека (реципиентным антителом), в котором остатки из определяющей комплементарность области (CDR) реципиента заменяют остатками из CDR не являющихся человеком видов (донорного антитела), таких как мышь, крыса или кролик, имеющими желаемую специфичность, аффинность и емкость. В некоторых вариантах осуществления остатки каркасной области (FR) Fv иммуноглобулина человека заменяют соответствующими не принадлежащими человеку остатками. Кроме того, гуманизованное антитело может содержать остатки, не содержащиеся ни в реципиентном антителе, ни в импортированной CDR или каркасных последовательностях, но включенные для дальнейшего уточнения и оптимизации характеристик антитела. В основном, гуманизованное антитело будет содержать, по существу, все из по меньшей мере одного и, как правило, двух переменных доменов, в которых все или по существу все из областей CDR соответствуют CDR из не принадлежащего человеку иммуноглобулина, и все или по существу все из областей FR являются областями из консенсусной последовательности иммуноглобулина человека. В оптимальном варианте гуманизованное антитело также будет содержать по меньшей мере часть константной области или домена (Fc) иммуноглобулина, как правило, иммуноглобулина человека. Антитела могут иметь Fc-области, модифицированные, как описано в WO 99/58572. Другие формы гуманизованных антитела имеют одну или более CDR (одну, две, три, четыре, пять, шесть), измененные относительно исходного антитела, которые также обозначают как

одну или более CDR, полученных из одной или более CDR из исходного антитела. Гуманизированные антитела также могут включать созревание аффинности.

[000276] Известны гуманизированные антитела и способы их получения, например, как описано в Almagro et al., *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008); Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); патенты США №№ 5821337, 7527791, 6982321 и 7087409; Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005); Padlan et al., *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991); Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005); Osbourn et al., *Methods* 36:61-68 (2005); и Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000), содержание всех из которых включено в настоящее описание посредством ссылки. Каркасные области человека, которые можно использовать, для гуманизации описаны, например, в Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993); Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); Presta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993); Almagro et al., *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); Vaca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997); и Rosok et al., *J Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996), содержание всех из которых включено в настоящее описание посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления гуманизации достигают посредством пересадки CDR (например, приведенных в таблице 1 или таблице 3) в переменные домены человека IGKV1-NL1*01 и IGHV1-3*01.

[000277] В некоторых вариантах осуществления гуманизированный каркас VH или каркас VL является консенсусным каркасом человека. В некоторых вариантах осуществления консенсусный гуманизированный каркас может соответствовать наиболее часто встречающемуся аминокислотному остатку при выборе последовательностей каркаса VL или VH иммуноглобулина человека.

[000278] В некоторых вариантах осуществления консенсусные каркасные области VH человека, подходящие для использования с CDR тяжелой цепи в гуманизированных антителах против TfR, представленных в настоящем описании, включают (подгруппа III консенсусных последовательностей):

[000279] а) FR1 VH: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO: 241);

[000280] б) FR2 VH: WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO: 242);

[000281] в) FR3 VH: RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO: 243); и

[000282] д) FR4 VH: WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 244).

[000283] В некоторых вариантах осуществления консенсусные каркасные области VH человека, подходящие для использования с CDR тяжелой цепи в гуманизированных антителах против TfR, представленных в настоящем описании, включают (подгруппа I консенсусных последовательностей):

[000284] а) FR1 VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKAS (SEQ ID NO: 245);

[000285] б) FR2 VH: WVRQAPGQGLEWM (SEQ ID NO: 246);

[000286] в) FR3 VH: RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC (SEQ ID NO: 247); и

[000287] д) FR4 VH: WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 244).

[000288] В некоторых вариантах осуществления консенсусные каркасные области VH человека, подходящие для использования с CDR тяжелой цепи в гуманизованных антителах против TfR, представленных в настоящем описании, включают (подгруппа II консенсусных последовательностей):

[000289] a) FR1 VH: QVQLQESGPGLVKPSQTLTCTVS (SEQ ID NO: 249);

[000290] b) FR2 VH: WIRQPPGKGLEWI (SEQ ID NO:250);

[000291] c) FR3 VH: RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 251); и

[000292] d) FR4 VH: WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 244).

[000293] В некоторых вариантах осуществления консенсусные каркасные области VL человека, подходящие для использования с CDR легкой цепи в гуманизованных антителах против TfR, представленных в настоящем описании, включают (подгруппа I консенсусных последовательностей):

[000294] a) FR1 VL: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:253);

[000295] b) FR2 VL: WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 254);

[000296] c) FR3 VL: GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 256); и

[000297] d) FR4 VL: FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 248).

[000298] В некоторых вариантах осуществления консенсусные каркасные области VL человека, подходящие для использования с CDR легкой цепи в гуманизованных антителах против TfR, представленных в настоящем описании, включают (подгруппа II консенсусных последовательностей):

[000299] a) FR1 VL: DIVMTQSPLSLPVTGPGEASIS (SEQ ID NO: 257);

[000300] b) FR2 VL: WYLQKPGQSPQLLIY (SEQ ID NO:258);

[000301] c) FR3 VL: GVPDRFSGSGSGTDFLTKISRVEAEDVGVYYC (SEQ ID NO: 259); и

[000302] d) FR4 VL: FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 248).

[000303] В некоторых вариантах осуществления консенсусные каркасные области VL человека, подходящие для использования с CDR легкой цепи в гуманизованных антителах против TfR, представленных в настоящем описании, включают (подгруппа III консенсусных последовательностей):

[000304] a) FR1 VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC (SEQ ID NO: 252);

[000305] b) FR2 VL: WYQQKPGQPPKLLIY (SEQ ID NO: 255);

[000306] c) FR3 VL: GVPDRFSGSGSGTDFLTISLQAEDFAVYYC (SEQ ID NO: 263); и

[000307] d) FR4 VL: FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 248).

[000308] В некоторых вариантах осуществления консенсусные каркасные области VL человека, подходящие для использования с CDR легкой цепи в гуманизованных антителах против TfR, представленных в настоящем описании, включают (подгруппа IV консенсусных последовательностей):

[000309] a) FR1 VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC (SEQ ID NO: 252);

[000310] b) FR2 VL: WYQQKPGQPPKLLIY (SEQ ID NO: 255);

[000311] c) FR3 VL: GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDFAVYYC (SEQ ID NO: 260); и

[000312] d) FR4 VL: FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 248).

[000313] В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизованные каркасные области VH, в совокупности содержащие не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с любой из подгрупп консенсусных каркасных областей VH человека, представленных в настоящем описании. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), гуманизованное антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизованные каркасные области VL, в совокупности содержащие не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с любой из подгрупп консенсусных каркасных областей VL человека, представленных в настоящем описании.

[000314] В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизованные каркасные области VH, в совокупности являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными любой из подгрупп консенсусных каркасных областей VH человека, представленных в настоящем описании. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), гуманизованное антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизованные каркасные области VL, являющиеся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичными любой из подгрупп консенсусных каркасных областей VL человека, представленных в настоящем описании.

[000315] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизованным вариантом, содержащим одно или более изменений аминокислот (например, в каркасной области VH) по сравнению с любым из VH, указанных в таблице 1 или таблице 3, и/или (например, и) одно или более изменений аминокислот (например, в каркасной области VL) по сравнению с любым из VL, указанных в таблице 1 или таблице 3.

[000316] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизованным антителом, содержащим VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH любого из антител против TfR, приведенных в таблице 1. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизованным антителом, содержащим VL, содержащий не

более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL любого из антител против TfR, приведенных в таблице 1.

[000317] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизированным антителом, содержащим VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в любой из SEQ ID NO: 7, 15 и 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизированным антителом, содержащим VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в любой из SEQ ID NO: 8, 16 и 24.

[000318] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизированным антителом, содержащим VH, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VH, приведенным в любой из SEQ ID NO: 7, 15 и 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизированным антителом, содержащим VL, содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с VL, приведенным в любой из SEQ ID NO: 8, 16 и 24.

[000319] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизированным антителом, содержащим VH, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VH, приведенному в любой из SEQ ID NO: 7, 15 и 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизированным антителом, содержащим VL, содержащий аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной VL, приведенному в любой из SEQ ID NO: 8, 16 и 24.

[000320] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизированным антителом, содержащим VH, имеющий одно или более (например, 10-25) изменений аминокислот в положениях 1, 2, 5, 9, 11, 12, 13, 17, 20, 23, 33, 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 48, 49, 55, 67, 68, 70, 71, 72, 76, 77, 80, 81, 82, 84, 87, 88, 91, 95, 112 или 115 относительно VH, приведенного в любой из SEQ ID NO: 7, 15 и 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизированным антителом,

содержащим VL, имеющий одно или более (например, 10-20) изменений аминокислот в положениях 4, 7, 8, 9, 11, 15, 17, 18, 19, 22, 39, 41, 42, 43, 50, 62, 64, 72, 75, 77, 79, 80, 81, 82, 83, 85, 87, 89, 100, 104 или 109 относительно VL, приведенного в любой из SEQ ID NO: 8, 16 и 24.

[000321] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 233, или SEQ ID NO: 80 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 (по системе определения IMGT), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 7. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 (по системе определения IMGT), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 8.

[000322] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 233, или SEQ ID NO: 80 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 (по системе определения IMGT), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VH, приведенному в SEQ ID NO: 7. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 (по системе определения IMGT), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VL, приведенному в SEQ ID NO: 8.

[000323] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1,

имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 145 (по системе определения Kabat), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 234 или SEQ ID NO: 236 (по системе определения Kabat), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 147 (по системе определения Kabat), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 7. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 148 (по системе определения Kabat), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 149 (по системе определения Kabat), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 (по системе определения Kabat), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 8.

[000324] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 145 (по системе определения Kabat), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 234 или SEQ ID NO: 236 (по системе определения Kabat), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 147 (по системе определения Kabat), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VH, приведенному в SEQ ID NO: 7. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 148 (по системе определения Kabat), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 149 (по системе определения Kabat), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 (по системе определения Kabat), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VL, приведенному в SEQ ID NO: 8.

[000325] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 150 (по системе определения Chothia), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 277 или SEQ ID NO: 278 (по системе определения Chothia), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 152 (по системе определения Chothia), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в

каркасных областях по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 7. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 153 (по системе определения Chothia), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 (по системе определения Chothia), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 (по системе определения Chothia), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 8.

[000326] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 150 (по системе определения Chothia), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 277 или SEQ ID NO: 278 (по системе определения Chothia), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 152 (по системе определения Chothia), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VH, приведенному в SEQ ID NO: 7. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 153 (по системе определения Chothia), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 (по системе определения Chothia), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 154 (по системе определения Chothia), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VL, приведенному в SEQ ID NO: 8.

[000327] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11 (по системе определения IMGT), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 15. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 (по системе

определения IMGT), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 16.

[000328] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11 (по системе определения IMGT), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VH, приведенному в SEQ ID NO: 15. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 (по системе определения IMGT), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VL, приведенному в SEQ ID NO: 16.

[000329] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155 (по системе определения Kabat), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156 (по системе определения Kabat), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 (по системе определения Kabat), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 15. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158 (по системе определения Kabat), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 159 (по системе определения Kabat), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 (по системе определения Kabat), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 16.

[000330] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1,

имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155 (по системе определения Kabat), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156 (по системе определения Kabat), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 (по системе определения Kabat), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VH, приведенному в SEQ ID NO: 15. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158 (по системе определения Kabat), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 159 (по системе определения Kabat), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 (по системе определения Kabat), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VL, приведенному в SEQ ID NO: 16.

[000331] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160 (по системе определения Chothia), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 161 (по системе определения Chothia), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 162 (по системе определения Chothia), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 15. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 163 (по системе определения Chothia), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 (по системе определения Chothia), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 164 (по системе определения Chothia), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 16.

[000332] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160 (по системе определения Chothia), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 161 (по системе определения Chothia), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 162 (по системе определения Chothia), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VH, приведенному в SEQ ID NO: 15. Альтернативно или дополнительно

(например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 163 (по системе определения Chothia), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 (по системе определения Chothia), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 164 (по системе определения Chothia), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VL, приведенному в SEQ ID NO: 16.

[000333] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 237 или SEQ ID NO: 239 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (по системе определения IMGT), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22 (по системе определения IMGT), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 24.

[000334] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 237 или SEQ ID NO: 239 (по системе определения IMGT), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18 (по системе определения IMGT), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (по системе определения IMGT), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VH, приведенному в SEQ ID NO: 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (по системе определения IMGT), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (по системе определения IMGT), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22 (по системе определения IMGT), и являющийся на по меньшей мере 75%

(например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VL, приведенному в SEQ ID NO: 24.

[000335] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 238 или SEQ ID NO: 240 (по системе определения Kabat), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166 (по системе определения Kabat), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167 (по системе определения Kabat), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168 (по системе определения Kabat), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 169 (по системе определения Kabat), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22 (по системе определения Kabat), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 24.

[000336] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 238 или SEQ ID NO: 240 (по системе определения Kabat), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166 (по системе определения Kabat), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167 (по системе определения Kabat), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VH, приведенному в SEQ ID NO: 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168 (по системе определения Kabat), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 169 (по системе определения Kabat), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22 (по системе определения Kabat), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VL, приведенному в SEQ ID NO: 24.

[000337] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 170 (по системе определения Chothia), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 171 (по

системе определения Chothia), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 172 (по системе определения Chothia), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VH, приведенным в SEQ ID NO: 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 173 (по системе определения Chothia), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (по системе определения Chothia), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174 (по системе определения Chothia), и содержащий не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) в каркасных областях по сравнению с VL, приведенным в SEQ ID NO: 24.

[000338] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VH, содержащий CDR-H1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 170 (по системе определения Chothia), CDR-H2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 171 (по системе определения Chothia), CDR-H3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 172 (по системе определения Chothia), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VH, приведенному в SEQ ID NO: 23. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит гуманизированный VL, содержащий CDR-L1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 173 (по системе определения Chothia), CDR-L2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (по системе определения Chothia), и CDR-L3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174 (по системе определения Chothia), и являющийся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичным в каркасных областях VL, приведенному в SEQ ID NO: 24.

[000339] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению является химерным антителом, которое может включать константную область тяжелой цепи и константную область легкой цепи из антитела человека. Термин "химерные антитела" относятся к антителам, имеющим переменную область или часть переменной области из первого биологического вида и константную область из второго биологического вида. Как правило, в этих химерных антителах переменная область легких и тяжелых цепей имитирует переменные области антител, полученные из одного вида млекопитающих (например, не принадлежащего человеку млекопитающего, такого как мышь, кролик и крыса), в то время как константные части являются гомологичными в отношении последовательностей в антител, полученных из

другого млекопитающего, такого как человек. В некоторых вариантах осуществления модификации аминокислот можно осуществлять в вариательной области и/или (например, и) константной области.

[000340] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, является химерным антителом, которое может включать константную область тяжелой цепи и константную область легкой цепи из антитела человека. Термин "химерные антитела" относятся к антителам, имеющим вариательную область или часть вариательной области из первого биологического вида и константную область из второго биологического вида. Как правило, в этих химерных антителах вариательная область легких и тяжелых цепей имитирует вариательные области антител, полученные из одного вида млекопитающих (например, не принадлежащего человеку млекопитающего, такого как мышь, кролик и крыса), в то время как константные части являются гомологичными последовательностям в антителах, полученных из другого млекопитающего, такого как человек. В некоторых вариантах осуществления модификации аминокислот можно осуществлять в вариательной области и/или (например, и) константной области.

[000341] В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь любых из антител против TfR, как представлено в настоящем описании, может содержать константную область тяжелой цепи (CH) или ее часть (например, CH1, CH2, CH3 или их комбинацию). Константная область тяжелой цепи может иметь любое подходящее происхождение, например, принадлежать человеку, мыши, крысы или кролика. В одном конкретном примере константная область тяжелой цепи получена из IgG человека (тяжелая цепь гамма), например, IgG1, IgG2 или IgG4. Пример константной области IgG1 человека приведен ниже:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 175)

[000342] В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь любых из антител против TfR, представленных в настоящем описании, содержит мутантную константную область IgG1 человека. Например, известно, что встраивание мутаций LALA (мутант, полученный из mAb b12, подвергнутого мутагенезу для замены остатков нижней шарнирной области Leu234 Leu235 на Ala234 и Ala235) в домене CH2 IgG1 человека снижает связывание рецептора Fcγ (Bruhns, P., et al. (2009) и Xu, D. et al. (2000)). Мутантная константная область IgG1 человека приведена ниже (мутации выделены полужирным шрифтом и подчеркнуты):

[000343]

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS

GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG
 GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
 YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
 RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVDFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 176)

[000344] В некоторых вариантах осуществления легкая цепь любых из антител против TfR, представленных в настоящем описании, может дополнительно содержать константную область легкой цепи (CL), которая может являться любой CL, известной в этой области. В некоторых примерах, CL относится к легкой цепи каппа. В других примерах CL относится к легкой цепи лямбда. В некоторых вариантах осуществления CL относится к легкой цепи каппа, последовательность которой приведена ниже:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
 SVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
 NO: 177)

[000345] Другие константные области хорошо тяжелой и легкой цепи антитела известны в этой области, например, представленные в базе данных IMGT (www.imgt.org) или на www.vbase2.org/vbstat.php, включенных в настоящее описание посредством ссылки.

[000346] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую любой из VH, приведенных в таблице 1, или любые его варианты и константную область тяжелой цепи, являющуюся на по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99% идентичной SEQ ID NO: 175 или SEQ ID NO: 176. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую любой из VH, приведенных в таблице 1, или любые его варианты и константную область тяжелой цепи, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с SEQ ID NO: 175 или SEQ ID NO: 176. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую любой из VH, приведенных в таблице 1, или любые его варианты и константную область тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 175. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую любой из VH, приведенных в таблице 1, или любые его варианты и константную область тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 176.

[000347] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую любой из VL, приведенных в таблице 1, или любые его варианты и константную область легкой цепи, являющуюся на по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по

меньшей мере 95% или по меньшей мере 99% идентичной SEQ ID NO: 177. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую любой из VL, приведенных в таблице 1, или любые его варианты и константную область легкой цепи, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с SEQ ID NO: 177. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую любой из VL, приведенных в таблице 1, или любые его варианты и константную область легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 177.

[000348] Примеры аминокислотных последовательностей тяжелой цепи и легкой цепи IgG описанных антител против TfR приведены в таблице 4 ниже.

Таблица 4. Последовательности тяжелой цепи и легкой цепи примеров IgG против TfR

Антитело	Последовательности тяжелой цепи/легкой цепи IgG
3-A4	<p>Тяжелая цепь (с константной областью IgG1 дикого типа человека) <u>EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWI</u> <u>GWIDPENGDTHEYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCT</u> <u>LWLRRLDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV</u> KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKQ KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO: 178)</p> <p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа) <u>DIVMTQAAPSVPVTPGESVVISCRSSKSLHNSGYTYLFWFLQRPQSPQL</u> <u>LIYRMSNLAGVPPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPF</u> <u>TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ</u> WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 179)</p>
3-A4 Вариант 1	<p>Тяжелая цепь (с константной областью IgG1 дикого типа человека) <u>EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWI</u> <u>GWIDPETGDTEYAS</u> <u>KFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTLWLRRLDYWGQG</u></p>

	<p><u>TSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS</u> <u>GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK</u> <u>VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC</u> <u>VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL</u> <u>HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL</u> <u>KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK</u> <u>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u> (SEQ ID NO: 269)</p> <p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа) <u>DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLHLSNGYTYLFWFLQRPQSPQL</u> <u>LIYRMSNLAGSVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPF</u> <u>TEGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ</u> <u>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV</u> <u>THQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 179)</p>
<p>3-A4 Вариант 2</p>	<p>Тяжелая цепь (с константной областью IgG1 дикого типа человека) <u>EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKQRPEQGLEWI</u> <u>GWIDPESGDTEYAS</u> <u>KFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAIVYYCTLWLRRGLDYGWQG</u> <u>TSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS</u> <u>GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK</u> <u>VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC</u> <u>VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL</u> <u>HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL</u> <u>KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK</u> <u>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u> (SEQ ID NO: 270)</p> <p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа) <u>DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLHLSNGYTYLFWFLQRPQSPQL</u> <u>LIYRMSNLAGSVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPF</u> <u>TEGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ</u> <u>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV</u> <u>THQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 179)</p>
<p>3-M12</p>	<p>Тяжелая цепь (с константной областью IgG1 дикого типа человека) <u>DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWM</u> <u>GYITFDGANNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLTSVTTEDTATYYCTRSS</u></p>

	<p><u>YDYDVL</u><u>DYWGQGTTLTVSS</u><u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK</u> <u>DYFPEPVT</u><u>TSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT</u> <u>YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP</u> <u>KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ</u> <u>YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR</u> <u>EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT</u> <u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL</u> <u>SPGK</u> (SEQ ID NO: 180)</p>
	<p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа) <u>DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLNWFYQQRPDGTVKLLIYYT</u> <u>SRLHSGVPSRFSGSGSGTDFSLTVSNLEQEDIATYFCQQGHTLPYTFGGGT</u> <u>KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN</u> <u>ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGL</u> <u>SSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 181)</p>
5-H12	<p>Тяжелая цепь (с константной областью IgG1 дикого типа человека) <u>QIQ</u><u>LQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYCINWVNQRPGQGLEWIG</u> <u>WIYPGSGNTRYSERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARE</u> <u>DYYPYHGMDYWGQGTSVTVSS</u><u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL</u> <u>VKD</u><u>YFPEPVT</u><u>TSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT</u> <u>QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP</u> <u>KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE</u> <u>EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ</u> <u>PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK</u> <u>TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL</u> <u>SLSPGK</u> (SEQ ID NO: 182)</p> <p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа) <u>DIVLTQSP</u><u>TSLA</u><u>VSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKL</u> <u>LIFRASNLES</u><u>GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWT</u> <u>FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ</u> <u>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV</u> <u>THQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 183)</p>
5-H12 Вариант 1	<p>Тяжелая цепь (с константной областью IgG1 дикого типа человека) <u>QIQ</u><u>LQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYINWVNQRPGQGLEWIG</u> <u>WIYPGSGNTRYSERF</u> <u>KGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARE</u><u>DYYPYHGMDYWGQ</u></p>

	<p><u>GTSVTVSS</u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 271)</p>
	<p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа) <u>DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGOPP</u> <u>LIFRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWT</u> <u>FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ</u> WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 183)</p>
<p>5-H12 Вариант 2</p>	<p>Тяжелая цепь (с константной областью IgG1 дикого типа человека) <u>QIQLQQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYDINWVNQRPGQGLEWIG</u> <u>WIYPGSGNTRYSERF</u> <u>KGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDYYPYHGMDYWGO</u> <u>GTSVTVSS</u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 272)</p> <p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа) <u>DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGOPP</u> <u>LIFRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQQSSEDPWT</u> <u>FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ</u> WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 183)</p>

* последовательности VH/VL подчеркнуты

[000349] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, содержащую не более 25 изменений

аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с тяжелой цепью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 178, 180, 182 и 269-272. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит легкую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с легкой цепью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 179, 181 и 183. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной любой из SEQ ID NO: 178, 180, 182 и 269-272. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной любой из SEQ ID NO: 179, 181, 183. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 178, 180, 182 и 269-272. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 179, 181 и 183.

[000350] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с тяжелой цепью, приведенной в SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 269 или SEQ ID NO: 270. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит легкую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 10, 11, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с легкой цепью, приведенной в SEQ ID NO: 179. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 269 или SEQ ID NO: 270. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной SEQ ID NO: 179. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:

178, SEQ ID NO: 269 или SEQ ID NO: 270. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 179.

[000351] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с тяжелой цепью, приведенной в SEQ ID NO: 180. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит легкую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с легкой цепью, приведенной в SEQ ID NO: 181. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной SEQ ID NO: 180. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной SEQ ID NO: 181. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 181.

[000352] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с тяжелой цепью, приведенной в SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 271 или SEQ ID NO: 272. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит легкую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с легкой цепью, приведенной в SEQ ID NO: 183. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 271 или SEQ ID NO: 272. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например,

75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной SEQ ID NO: 183. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 271 или SEQ ID NO: 272. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183.

[000353] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR является Fab-фрагментом, F(ab')-фрагментом или F(ab')₂-фрагментом интактного антитела (полноразмерного антитела). Антигенсвязывающий фрагмент интактного антитела (полноразмерного антитела) можно получать общепринятыми способами (например, рекомбинантно или посредством расщепления константной области тяжелой цепи полноразмерного IgG с использованием фермента, такого как папаин). Например, F(ab')₂-фрагменты можно получать посредством расщепления пепсином или папаином молекулы антитела и Fab-фрагментов, которые можно получать посредством восстановления дисульфидных мостиков F(ab')₂-фрагментов. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи в F(ab')-фрагменте антитела против TfR1, представленного в настоящем описании, содержит аминокислотную последовательность: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 184)

[000354] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую любой из VH, приведенных в таблице 1, или любые его варианты и константную область тяжелой цепи, являющуюся на по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99% идентичной SEQ ID NO: 184. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую любой из VH, приведенных в таблице 1, или любые его варианты и константную область тяжелой цепи, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с SEQ ID NO: 184. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую любой из VH, приведенных в таблице 1, или любые его варианты и константную область тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO: 184.

[000355] Примеры аминокислотных последовательностей F(ab') антител против TfR, представленных в настоящем описании, приведены в таблице 5.

Таблица 5. Последовательности тяжелой цепи и легкой цепи примеров F(ab') против TfR

Антитело	Последовательности тяжелой цепи/легкой цепи F(ab')
----------	--

3-A4	<p>Тяжелая цепь (с частичной константной областью IgG1 человека)</p> <p><u>EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKORPEQGLEWI</u> <u>GWIDPENGDTHEYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCT</u> <u>LWLRGLDYWGQGTSTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV</u> <u>KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ</u> <u>TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT</u> (SEQ ID NO: 185)</p>
	<p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа)</p> <p><u>DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLHLSNGYTYLFWFLQRPGQSPQL</u> <u>LIYRMSNLAGVDPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPF</u> <u>TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ</u> <u>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV</u> <u>THQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 179)</p>
3-A4 Вариант 1	<p>Тяжелая цепь (с частичной константной областью IgG1 человека)</p> <p><u>EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKORPEQGLEWI</u> <u>GWIDPETGDTEYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTL</u> <u>WLRRGLDYWGQGTSTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK</u> <u>DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT</u> <u>YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT</u> (SEQ ID NO: 273)</p>
	<p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа)</p> <p><u>DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLHLSNGYTYLFWFLQRPGQSPQL</u> <u>LIYRMSNLAGVDPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPF</u> <u>TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ</u> <u>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV</u> <u>THQGLSSPVTKSFNRGEC</u> (SEQ ID NO: 179)</p>
3-A4 Вариант 2	<p>Тяжелая цепь (с частичной константной областью IgG1 человека)</p> <p><u>EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMYWVKORPEQGLEWI</u> <u>GWIDPESGDTEYASKFQDKATVTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTL</u> <u>WLRRGLDYWGQGTSTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK</u> <u>DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT</u> <u>YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT</u> (SEQ ID NO: 274)</p>
	<p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа)</p> <p><u>DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLHLSNGYTYLFWFLQRPGQSPQL</u> <u>LIYRMSNLAGVDPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPF</u> <u>TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ</u> <u>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV</u></p>

	THQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 179)
3-M12	<p>Тяжелая цепь (с частичной константной областью IgG1 человека) <u>DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWM</u> <u>GYITFDGANNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLTSVTTEDTATYYCTRSS</u> <u>YDYDVLDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK</u> DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 186)</p> <p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа) <u>DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLNWFYQORPDGTVKLLIYYT</u> <u>SRLHSGVPSRFSGSGSGTDFSLTVSNLEQEDIATYFCQOGHTLPYTFGGGT</u> <u>KLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN</u> ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 181)</p>
5-H12	<p>Тяжелая цепь (с частичной константной областью IgG1 человека) <u>QIQLOQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYCINWVNQRPGQGLEWIG</u> <u>WIYPGSGNTRYSERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARE</u> <u>DYYPYHGMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL</u> VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 187)</p> <p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа) <u>DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQOKPGOPPCL</u> <u>LIFRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQOSSEDPWT</u> <u>FGGGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ</u> WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 183)</p>
5-H12 Вариант 1	<p>Тяжелая цепь (с частичной константной областью IgG1 человека) <u>QIQLOQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYINWVNQRPGQGLEWIG</u> <u>WIYPGSGNTRYSERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARE</u> <u>DYYPYHGMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL</u> VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 275)</p> <p>Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа) <u>DIVLTQSPTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQOKPGOPPCL</u> <u>LIFRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAADVATYYCQOSSEDPWT</u></p>

	<u>FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ</u> <u>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV</u> <u>THQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 183)</u>
5-H12 Вариант 2	Тяжелая цепь (с частичной константной областью IgG1 человека) <u>QIQLOQSGPELVRPGASVKISCKASGYSFTDYDINWVNQRPGQGLEWIG</u> <u>WIYPGSGNTRYSERFKGKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARE</u> <u>DYYPYHGMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL</u> <u>VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT</u> <u>QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 276)</u>
	Легкая цепь (с константной областью легкой цепи каппа) <u>DIVLTQSPSTSLAVSLGQRATISCRASESVDGYDNSFMHWYQQKPGQPPKL</u> <u>LIFRASNLESGIPARFSGSGSRRTDFTLTINPVEAADVATYYCQOSSEDPWT</u> <u>FGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ</u> <u>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV</u> <u>THQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 183)</u>

* Последовательности VH/VL подчеркнуты

[000356] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с тяжелой цепью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 185, 186, 187 и 273-276. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит легкую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с легкой цепью, приведенной в любой из SEQ ID NO: 179, 181 и 183. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной любой из SEQ ID NO: 185, 186, 187 и 273-276. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной любой из SEQ ID NO: 179, 181 и 183. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 185, 186, 187 и 273-276. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в

настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 179, 181 и 183.

[000357] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с тяжелой цепью, приведенной в SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 273 или SEQ ID NO: 274. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит легкую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с легкой цепью, приведенной в SEQ ID NO: 179. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 273 или SEQ ID NO: 274. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной SEQ ID NO: 179. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 273 или SEQ ID NO: 274. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 179.

[000358] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с тяжелой цепью, приведенной в SEQ ID NO: 186. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит легкую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 10, 11, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с легкой цепью, приведенной в SEQ ID NO: 181. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной SEQ ID NO: 186. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной SEQ ID NO: 181. В некоторых

вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 186. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 181.

[000359] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с тяжелой цепью, приведенной в SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 275, или SEQ ID NO: 276. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR по настоящему изобретению содержит легкую цепь, содержащую не более 25 изменений аминокислот (например, не более 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 изменения аминокислоты) по сравнению с легкой цепью, приведенной в SEQ ID NO: 183. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 275, или SEQ ID NO: 276. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 75% (например, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) идентичной SEQ ID NO: 183. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 275, или SEQ ID NO: 276. Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), антитело против TfR, представленное в настоящем описании, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183.

[000360] Антитела против TfR рецептор, представленные в настоящем описании, могут находиться в любой форме антитела, включая, в качестве неограничивающих примеров, интактные (т.е. полноразмерные) антитела, их антигенсвязывающие фрагменты (такие как Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv), одноцепочечные антитела, биспецифические антитела или нанотела. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, является scFv. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, является scFv-Fab (например, scFv, слитый с частью константной области). В некоторых вариантах осуществления антитело против рецептора TfR, представленное в настоящем описании, является scFv, слитым с константной областью (например, константной областью IgG1 человека, приведенной в SEQ ID NO: 175 или SEQ ID NO: 176, или ее частью, такой как Fc-часть) на N-конце или C-конце.

[000361] В некоторых вариантах осуществления в последовательности антитела (например, CDR или каркасные последовательности) можно встраивать консервативные мутации в положениях, где маловероятно, что остатки будут участвовать во взаимодействии с антигеном-мишенью (например, рецептором трансферрина), например, что определяют на основе кристаллической структуры. В некоторых вариантах осуществления встраивают одну, две или более мутаций (например, замен аминокислот) в Fc-область антитела против TfR, представленного в настоящем описании (например, в домен CH2 (остатки 231-340 IgG1 человека) и/или (например, и) домен CH3 (остатки 341-447 IgG1 человека) и/или (например, и) шарнирную область, при этом нумерацию осуществляют по системе Kabat (например, индексу EU по Kabat)), для изменения одного или более функциональных свойств антитела, таких как время полужизни в сыворотке, связывание комплемента, связывание Fc-рецептора и/или (например, и) антиген-зависимая клеточная цитотоксичность.

[000362] В некоторых вариантах осуществления одну, две или более мутаций (например, замен аминокислот) встраивают в шарнирную область Fc-области (домена CH1) таким образом, что изменяют (например, повышают или снижают) количество остатков цистеина в шарнирной области, как описано, например, в патенте США № 5677425. Количество остатков цистеина в шарнирной области домена CH1 можно изменять, например, для облегчения сборки легких и тяжелых цепей, или для изменения (например, повышения или снижения) стабильности антитела, или для облегчения конъюгации с линкером.

[000363] В некоторых вариантах осуществления одну, две или более мутаций (например, замен аминокислот) встраивают в Fc-область мышечно-специфического антитела, представленного в настоящем описании (например, в домен CH2 (остатки 231-340 IgG1 человека), и/или (например, и) домен CH3 (остатки 341-447 IgG1 человека), и/или (например, и) шарнирную область, при этом нумерацию осуществляют по системе Kabat (например, индексу EU по Kabat)), для повышения или снижения аффинности антитела к Fc-рецептору (например, активированному Fc-рецептору) на поверхности эффекторной клетки. Специалисту в этой области известны мутации в Fc-области антитела, снижающие или повышающие аффинность антитела к Fc-рецептору, и способы встраивания таких мутаций в Fc-рецептор или его фрагмент. Примеры мутаций в Fc-рецепторе антитела, которые можно вносить для изменения аффинности антитела к Fc-рецептору, описаны, например, в Smith P et al., (2012) PNAS 109: 6181-6186, патенте США № 6737056, и международных патентных публикациях №№ WO 02/060919; WO 98/23289 и WO 97/34631, включенных в настоящее описание посредством ссылки.

[000364] В некоторых вариантах осуществления одну, две или более мутаций аминокислот (т.е. замен, инсерций или делеций) встраивают в константный домен IgG или его FcRn-связывающий фрагмент (предпочтительно, Fc или фрагмент шарнирной области- Fc-домена) для изменения (например, снижения или повышения) времени полужизни антитела *in vivo*. См., например, международные патентные публикации №№ WO

02/060919; WO 98/23289 и WO 97/34631 и патенты США №№ 5869046, 6121022, 6277375 и 6165745 для примеров мутаций, которые будут изменять (например, снижать или повышать) время полужизни антитела *in vivo*.

[000365] В некоторых вариантах осуществления одну, две или более мутаций аминокислот (т.е. замен, инсерций или делеций) встраивают в константный домен IgG или его FcRn-связывающий фрагмент (предпочтительно, Fc или фрагмент шарнирной области-Fc-домена) для снижения времени полужизни антитела против TfR *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления одну, две или более мутаций аминокислот (т.е. замен, инсерций или делеций) встраивают в константный домен IgG или его FcRn-связывающий фрагмент (предпочтительно, Fc или фрагмент шарнирной области-Fc-домена) для повышения времени полужизни антитела *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления антитела могут иметь одну или более мутаций аминокислот (например, замен) во втором константном домене (CH2) (остатки 231-340 IgG1 человека) и/или (например, и) третьем константном домене (CH3) (остатки 341-447 IgG1 человека), при этом нумерацию осуществляют по индексу EU по Kabat (Kabat E A et al., (1991) выше). В некоторых вариантах осуществления константная область IgG1 антитела, представленного в настоящем описании, содержит замену метионина (M) тирозином (Y) в положении 252, замену серина (S) треонином (T) в положении 254, и замену треонина (T) глутаминовой кислотой (E) в положении 256, пронумерованные с помощью индекса EU по Kabat. См. патент США № 7658921, включенный в настоящее описание посредством ссылки. Показано, что этот тип мутантного IgG, обозначаемый как "YTE-мутант", демонстрирует увеличенное в четыре раза время полужизни по сравнению с версиями дикого типа того же антитела (см. Dall'Acqua W F et al., (2006) J Biol Chem 281: 23514-24). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константный домен IgG, содержащий одну, две, три или более замен аминокислотных остатков в положениях 251-257, 285-290, 308-314, 385-389 и 428-436, пронумерованных с помощью индекса EU по Kabat.

[000366] В некоторых вариантах осуществления одну, две или более замен аминокислот встраивают в константный домен Fc-области IgG для изменения эффекторных функций антитела против рецептора TfR. Эффекторный лиганд, аффинность к которому изменяют, может являться, например, Fc-рецептором или компонентом комплемента C1. Этот подход подробно описан в патентах США №№ 5624821 и 5648260. В некоторых вариантах осуществления делеция или инактивация (посредством точечных мутаций или иных средств) константной области может снижать связывание Fc-рецептора циркулирующим антителом, таким образом, повышая локализацию в опухоли. Описание мутаций, приводящих к делеции или инактивации константного домена и, таким образом, повышающих локализацию в опухоли, см., например, в патентах США №№ 5585097 и 8591886. В некоторых вариантах осуществления одну или более замены аминокислот можно встраивать в Fc-область антитела, представленного в настоящем описании, для удаления потенциальных участков гликозилирования на Fc-области, которые могут

приводить к снижению связывания Fc-рецептора (см., например, Shields R L et al., (2001) J Biol Chem 276: 6591-604).

[000367] В некоторых вариантах осуществления одну или более аминокислот в константной области антитела против TfR, представленного в настоящем описании, можно заменять другим аминокислотным остатком таким образом, что антитело имеет измененное связывание C1q и/или (например, и) сниженную или отсутствующую обусловленную комплементом цитотоксичность (CDC). Этот подход подробно описан в патенте США № 6194551 (Idusogie et al). В некоторых вариантах осуществления один или более аминокислотных остатков в N-концевой области домена CH2 антитела, представленного в настоящем описании, изменяют, чтобы, таким образом, изменить способность антитела связываться с комплементом. Этот подход описан в международной публикации № WO 94/29351. В некоторых вариантах осуществления Fc-область антитела, представленного в настоящем описании, модифицируют для повышения способности антитела для опосредования антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или (например, и) для повышения аффинности антитела к рецептору Fcγ. Этот подход подробно описан в международной публикации № WO 00/42072.

[000368] В некоторых вариантах осуществления последовательности переменного домена тяжелой и/или (например, и) легкой цепи антител, представленных в настоящем описании, можно использовать для получения, например, антител с пересаженными CDR, химерных, гуманизированных или составных антител человека или антигенсвязывающих фрагментов, как описано в другом месте в настоящем описании. Как будет понятно специалисту в этой области, любой вариант антитела, антитела с пересаженными CDR, химерные, гуманизированные или составные антитела, полученные из любых из антител, представленных в настоящем описании, можно использовать в композиции и способах, представленных в настоящем описании, и они будут сохранять способность специфически связываться с рецептором трансферрина, таким образом, что вариант антитела, антитело с пересаженными CDR, химерное, гуманизированное или композитное антитело имеет по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или более связывания с рецептором трансферрина относительно исходного антитела, из которого его получают.

[000369] В некоторых вариантах осуществления антитела, представленные в настоящем описании, содержат мутации, придающие антителам желаемые свойства. Например, во избежание потенциальных осложнений из-за обмена Fab-фрагментов, как известно, возникающих в случае нативных mAb IgG4, антитела, представленные в настоящем описании, могут содержать стабилизирующую мутацию "Adair" (Angal S., et al., " A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody," Mol Immunol 30, 105-108; 1993), где серин 228 (нумерация EU; остаток 241 при нумерации по Kabat) преобразуют в пролин, что приводит к получению IgG1-

подобной шарнирной последовательности. Таким образом, любые из антител могут включать стабилизирующую мутацию "Adair".

[000370] В некоторых вариантах осуществления антитело является модифицированным, например, модифицированным посредством гликозилирования, фосфорилирования, сумоилирования, и/или (например, и) метилирования. В некоторых вариантах осуществления антитело является гликозилированным антителом, конъюгированным с одной или более молекулами сахаров или углеводов. В некоторых вариантах осуществления одна или более молекул сахаров или углеводов конъюгированы с антителом посредством N-гликозилирования, O-гликозилирования, C-гликозилирования, глипирования (присоединения GPI-якоря) и/или (например, и) фосфогликозилирования. В некоторых вариантах осуществления одна или более молекул сахаров или углеводов представляют собой моносахариды, дисахариды, олигосахариды или гликаны. В некоторых вариантах осуществления одна или более молекул сахаров или углеводов является разветвленным олигосахаридом или разветвленным гликаном. В некоторых вариантах осуществления одна или более молекул сахаров или углеводов включают маннозное звено, глюкозное звено, звено N-ацетилглюкозамина, звено N-ацетилгалактозамина, галактозное звено, фукозное звено или фосфолипидное звено. В некоторых вариантах осуществления есть приблизительно 1-10, приблизительно 1-5, приблизительно 5-10, приблизительно 1-4, приблизительно 1-3 или приблизительно 2 молекул сахара. В некоторых вариантах осуществления гликозилированное антитело является полностью или частично гликозилированным. В некоторых вариантах осуществления антитело является гликозилированным в результате химических реакций или ферментативными способами. В некоторых вариантах осуществления антитело является гликозилированным *in vitro* или внутри клетки, которая, необязательно, может иметь дефицит фермента пути N- или O-гликозилирования, например, гликозилтрансферазы. В некоторых вариантах осуществления антитело является функционализированным с использованием молекул сахаров или углеводов, как описано в международной публикации патентной заявки WO2014065661, опубликованной 1 мая 2014 года, названной, "Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof".

[000371] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против TfR1, представленных в настоящем описании, может содержать сигнальный пептид в последовательности тяжелой и/или (например, и) легкой цепи (например, N-концевой сигнальный пептид). В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR1, представленное в настоящем описании, содержит любую из последовательностей VH и VL, любую из последовательностей тяжелой цепи и легкой цепи IgG или любой из последовательностей тяжелой цепи и легкой цепи F(ab'), представленных в настоящем описании, и дополнительно содержит сигнальный пептид (например, N-концевой сигнальный пептид). В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид содержит аминокислотную последовательность MGWSCILFLVATATGVHS (SEQ ID NO: 232).

[000372] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению является гуманизированным антителом, содержащим каркасные области человека с CDR антитела мыши, приведенными в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12). В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению является IgG1 каппа, содержащим каркасные области человека с CDR антитела мыши, приведенными в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12). В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR по настоящему изобретению является Fab'-фрагментом IgG1 каппа, содержащим каркасные области человека с CDR антитела мыши, приведенными в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12).

[000373] В некоторых вариантах осуществления антитело, представленное в настоящем описании, может иметь одну или более посттрансляционных модификаций. В некоторых вариантах осуществления N-концевая циклизация, также называемая образованием пироглутамата (руго-Glu), может происходить в антителе в N-концевых остатках глутамата (Glu) и/или глутамин (Gln) при производстве. В некоторых вариантах осуществления образование пироглутамата происходит в последовательности тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления образование пироглутамата происходит в последовательности легкой цепи.

III Получение антител против TfR

[000374] Антитела, способные связываться с TfR, как представлено в настоящем описании, можно получать любым известным в этой области способом. См., например, Harlow and Lane, (1998) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York.

[000375] В некоторых вариантах осуществления антитела, специфические для антигена-мишени (например, TfR), можно получать с помощью общепринятой гибридомной технологии. Полноразмерный антиген-мишень или его фрагмент, необязательно, соединенный с белком-носителем, таки как KLH, можно использовать для иммунизации животного-хозяина для получения антител, связывающихся с этим антигеном. Путь и режим иммунизации животного-хозяина, как правило, соответствуют известным и общепринятым способам стимуляции и продукции антител, как представлено в настоящем описании. Общие способы получения антител мыши, гуманизированных антител и антител человека известны в этой области и представлены в настоящем описании. Предполагают, что любых млекопитающих, включая людей или их антитело-продуцирующие клетки, можно использовать в качестве основы для получения гибридных линий клеток млекопитающих, включая человека. Как правило, животного-хозяина инокулируют интраперитонеально, внутримышечно, перорально, подкожно, внутривенно и/или (например, и) внутрикожно с использованием количества иммуногена, как представлено в настоящем описании.

[000376] При желании, интересующее антитело (моноклональное или поликлональное) (например, продуцируемое гибридомой) можно секвенировать, а затем

полинуклеотидную последовательность можно клонировать в вектор для экспрессии или размножения. Последовательность, кодирующую интересующее антитело, можно поддерживать в векторе в клетке-хозяине, а затем клетку-хозяина можно подвергать экспансии и замораживать для последующего использования. Альтернативно, полинуклеотидную последовательность можно использовать для генетической манипуляции для "гуманизации" антитела или для улучшения аффинности (созревания аффинности) или других характеристик антитела. Например, константную область можно конструировать так, чтобы она больше напоминала константные области человека во избежание иммунного ответа, если антитело используют в клинических испытаниях и лечении людей. Желательной может являться генетическая манипуляция с последовательностью антител для достижения более высокой аффинности к антигену-мишени и более высокой эффективности. Специалисту в этой области очевидно, что можно осуществлять одно или более изменений полинуклеотидов в антителе и все равно сохранять его специфичность связывания в антигене-мишени.

[000377] В других вариантах осуществления полностью человеческие антитела можно получать с использованием коммерчески доступных мышей, сконструированных для экспрессии специфических иммуноглобулиновых белков человека. Трансгенных животных, сконструированных для получения более желательного (например, полностью человеческие антитела) или более устойчивого иммунного ответа, также можно использовать для получения гуманизированных антител или антител человека. Примерами такой технологии являются XenomouseRTM от Amgen, Inc. (Fremont, CA) и HuMAb-MouseRTM и TC MouseTM от Medarex, Inc. (Princeton, NJ) или мыши H2L2 от Harbour Антитела BV (Holland). Альтернативно, антитела можно получать рекомбинантно посредством фагового дисплея или дрожжевой технологии. См., например, патенты США №№ 5565332; 5580717; 5733743 и 6265150; и Winter et al., (1994) *Annu. Rev. Immunol.* 12:433-455. Альтернативно, можно использовать технологию фагового дисплея (McCafferty et al., (1990) *Nature* 348:552-553) для получения антител человека и фрагментов антител *in vitro* из репертуара генов переменных (V) доменов иммуноглобулинов неиммунизированных доноров.

[000378] Антигенсвязывающие фрагменты интактного антитела (полноразмерного антитела) можно получать общепринятыми способами. Например, F(ab')₂-фрагменты можно получать посредством расщепления пепсином молекулы антитела и Fab-фрагменты можно получать посредством восстановления дисульфидных мостиков F(ab')₂-фрагментов. Генетически сконструированные антитела, такие как гуманизированные антитела, химерные антитела, одноцепочечные антитела и биспецифические антитела, можно получать, например, посредством общепринятой рекомбинантной технологии. В одном из примеров, ДНК, кодирующую моноклональные антитела, специфические для антигена-мишени, легко можно выделять и секвенировать общепринятыми способами (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, способных специфически связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи моноклональных антител).

Гибридные клетки служат предпочтительным источником такой ДНК. После выделения ДНК можно помещать в один или более экспрессирующих векторов, с помощью которых затем трансфицируют клетки-хозяева, такие как клетки *E. coli*, клетки обезьян COS, клетки яичника китайского хомяка (CHO), клетки HEK293 человека или миеломные клетки, которые в иных условиях не продуцируют иммуноглобулиновый белок, для синтеза моноклональных антител в рекомбинантных клетках-хозяевах. См., например, публикацию РСТ № WO 87/04462. Затем ДНК можно модифицировать, например, заменяя кодирующую последовательность константными доменами тяжелой и легкой цепи человека вместо гомологичных последовательностей человека, Morrison et al., (1984) Proc. Nat. Acad. Sci. 81:6851, или ковалентно соединяя всю или часть кодирующей последовательности неиммуноглобулинового полипептида с кодирующей последовательностью иммуноглобулина. Таким образом, можно получать генетически сконструированные антитела, такие как "химерные" или "гибридные" антитела, имеющие специфичность связывания с антигеном-мишенью.

[000379] Одноцепочечное антитело можно получать посредством рекомбинантной технологии посредством связывания нуклеотидной последовательности, кодирующей переменную область тяжелой цепи, и нуклеотидной последовательности, кодирующей переменную область легкой цепи. Предпочтительно, между двумя переменными областями встраивают гибкий линкер.

[000380] Альтернативно, способы, описанные для получения одноцепочечных антител (патенты США №№ 4946778 и 4704692), можно адаптировать для получения фаговой или дрожжевой библиотеки scFv, и клоны scFv, специфические для TfR, можно идентифицировать с помощью библиотеки общепринятыми способами. Положительных клонов можно подвергать дополнительному скринингу для идентификации клонов, имеющих высокую аффинность связывания с TfR.

[000381] Антитела, полученные известным в этой области способом и представленные в настоящем описании, можно охарактеризовывать хорошо известными в этой области способами. Например, одним из способов является идентификация эпитопа, с которым связывается антиген, или "эпитопное картирование". Существует множество известных в этой области способов картирования и характеристики локализации эпитопов на белках, включая разрешение кристаллической структуры комплекса антитело-антиген, конкурентные анализы, анализы экспрессии фрагментов генов и анализы на основе синтетических пептидов, как описано, например, в главе 11 Harlow and Lane, *Using Antibodies, a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1999. В одном из примеров эпитопное картирование можно осуществлять с использованием H/D-Ex (водород-дейтериевого обмена), сопряженного с протеолизом и масс-спектрометрией. В дополнительном примере, эпитопное картирование можно использовать для определения последовательности, с которой связывается антитело. Эпитоп может являться линейным эпитопом, т.е. содержаться в одном тяжёлом аминокислоте, или конформационным эпитопом, образованным в результате трехмерного

взаимодействия аминокислот, которые могут не содержаться в едином тяже (линейной последовательности первичной структуры). Пептиды различной длины (например, по меньшей мере 4-6 аминокислот) можно выделять или синтезировать (например, рекомбинантно) и использовать для анализов связывания антитела. В другом примере эпитоп, с которым связывается антитело, можно определять в системном скрининге с использованием перекрывающихся пептидов, полученных из последовательности антигена-мишени, и определения связывания антителом. В соответствии с анализами экспрессии фрагментов генов, открытую рамку считывания, кодирующую антиген-мишень, фрагментируют случайным образом или с помощью специфических генетических конструкций и определяют реактивность экспрессирующихся фрагментов антигена с использованием антитела, подлежащего тестированию. Фрагменты генов, например, можно получать с помощью ПЦР, а затем транскрибировать и транслировать в белок *in vitro* в присутствии радиоактивных аминокислот. Затем связывание антитела с радиоактивно мечеными фрагментами антигена определяют посредством иммунопреципитации и электрофореза в геле. Некоторые эпитопы также можно идентифицировать с использованием крупных библиотек случайных пептидных последовательностей, экспонируемых на поверхности фаговых частиц (фаговых библиотек). Альтернативно, определенную библиотеку перекрывающихся пептидных фрагментов можно тестировать на связывание с тестируемым антителом в простых анализах связывания. В дополнительном примере для идентификации остатков, требуемых, достаточных и/или (например, и) необходимых для связывания эпитопа можно осуществлять мутагенез антигенсвязывающего домена, эксперименты по перестановке доменов и мутагенез с аланиновым сканированием. Альтернативно, можно осуществлять конкурентные анализы с использованием других антител, как известно, связывающихся с тем же антигеном для определения того, связывается ли антитело с тем же эпитопом, что и другие антитела. Конкурентные анализы хорошо известны специалистам в этой области.

[000382] В некоторых примерах антитело против TfR получают посредством рекомбинантной технологии, как описано ниже. Нуклеиновые кислоты, кодирующие тяжелую и легкую цепь антитела против TfR, представленного в настоящем описании, можно клонировать в один экспрессирующий вектор, где каждая нуклеотидная последовательность находится в функциональной связи с подходящим промотором. В одном из примеров каждая из нуклеотидных последовательностей, кодирующих тяжелую цепь и легкую цепь находится в функциональной связи с отдельным промотором. Альтернативно, нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую цепь и легкую цепь, могут находиться в функциональной связи с одним промотором, таким образом, что тяжелые и легкие цепи экспрессируются в одного промотора. При необходимости, между кодирующими последовательностями тяжелой цепи и легкой цепи можно встраивать внутренний участок связывания рибосом (IRES).

[000383] В некоторых примерах нуклеотидные последовательности, кодирующие две цепи антитела, клонируют в два вектора, которые можно встраивать в одинаковые или разные клетки. Если две цепи экспрессируют в разных клетках, каждую из них можно выделять из экспрессирующих их клеток-хозяев, и выделенные тяжелые цепи и легкие цепи можно смешивать и инкубировать в подходящих условиях, делающих возможным образование антитела.

[000384] Как правило, последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую одну или все цепи антител, можно клонировать в подходящий экспрессирующий вектор в функциональной связи с подходящим промотором, известными в этой области способами. Например, нуклеотидную последовательность и вектор в подходящих условиях можно приводить в контакт с ферментом рестрикции для получения комплементарных концов на каждой молекуле, которые могут спариваться друг с другом, и которые можно соединять друг с другом с помощью лигазы. Альтернативно, синтетические линкеры нуклеиновой кислоты можно лигировать к концам гена. Эти синтетические линкеры содержат последовательности нуклеиновой кислоты, соответствующие конкретному участку рестрикции в векторе. Выбор экспрессирующих векторов/промотора будет зависеть от типа клеток-хозяев для использования в получении антител.

[000385] Для экспрессии антител, представленных в настоящем описании, можно использовать различные промоторы, включая, в качестве неограничивающих примеров, промежуточный ранний промотор цитомегаловируса (CMV), вирусный LTR, такой как LTR вируса саркомы Рауса, ВИЧ-LTR, LTR HTLV-1, ранний промотор вируса обезьян 40 (SV40), промотор УФ *lac E. coli* и промотор вируса простого герпеса tk.

[000386] Также можно использовать регулируемые промоторы. Такие регулируемые промоторы включают промоторы, использующие репрессор *lac* из *E. coli* в качестве модулятора транскрипции для регуляции транскрипции с промоторов клеток млекопитающего, несущих оператор *lac* [Brown, M. et al., *Cell*, 49:603-612 (1987)], использующие тетрациклиновый репрессор (tetR) [Gossen, M., and Bujard, H., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5547-555115 (1992); Yao, F. et al., *Human Gene Therapy*, 9:1939-1950 (1998); Shockelt, P., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:6522-6526 (1995)]. Другие системы включают димер FK506, VP16 или p65 с использованием эстрадиола, RU486, дифенолмурислерона или рапамицина. Индуцибельные системы доступны, помимо прочего, в Invitrogen, Clontech и Ariad.

[000387] Можно использовать регулируемые промоторы, включающие репрессор с опероном. В одном из вариантов осуществления репрессор *lac* из *E. coli* может функционировать как модулятор транскрипции для регуляции транскрипции с промоторов клеток млекопитающего, несущих оператор *lac* [M. Brown et al., *Cell*, 49:603-612 (1987)]; Gossen and Bujard (1992); [M. Gossen et al., *Natl. Acad. Sci. USA*, 89:5547-5551(1992)], в комбинации с тетрациклиновым репрессором (tetR) с активатором транскрипции (VP 16) для получения слитого белка tetR-активатор транскрипции в

клетках млекопитающего, tTa (tetR-VP 16), с использованием tetO, несущих минимальный промотор, полученный из промотора цитомегаловируса человека (hCMV), для получения системы оператора tetR-tet для контроля экспрессии генов в клетках млекопитающих. В одном из вариантов осуществления используют индуцируемое тетрациклином переключение. Тетрациклиновый репрессор (tetR) в отдельности, а не слитые производные tetR-фактор транскрипции в клетках млекопитающего, может функционировать как мощный транс-модулятор для регуляции экспрессии генов в клетках млекопитающих, когда тетрациклиновый оператор правильно расположен ниже ТАТА-элемента промотора CMVIE (Yao et al., Human Gene Therapy). Одним из конкретных преимуществ этого индуцируемого тетрациклином переключения является то, что оно не требует использования тетрациклинового репрессора-трансактиватора клеток млекопитающих или слитый белок репрессора, которые в некоторых случаях могут быть токсичными для клеток (Gossen et al., Natl. Acad. Sci. USA, 89:5547-5551 (1992); Shockett et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92:6522-6526 (1995)), для достижения их регулируемых эффектов.

[000388] Кроме того, вектор может содержать, например, некоторое или все из следующего: ген селективного маркера, такой как ген резистентности к неомицину для селекции стабильных или транзиторных трансфектантов в клетках млекопитающих; последовательности энхансера/промотора из предраннего гена CMV человека для высоких уровней транскрипции; сигналы терминации транскрипции и процессирования РНК из SV40 для стабильности мРНК; участки начала репликации SV40 полиомы и ColE1 для правильной эписомальной репликации; внутренние участки связывания рибосомы (IRES), универсальные участки множественного клонирования; и промоторы РНК T7 и SP6 для транскрипции *in vitro* смысловой и антисмысловой РНК. Подходящие векторы и способы для получения векторов, содержащих трансгены, хорошо известны и доступны в этой области. Неограничивающие примеры сигналов полиаденилирования, которые можно использовать для практического осуществления способов, представленных в настоящем описании, включают сигнал полиаденилирования коллагена I человека, сигнал полиаденилирования коллагена II человека и сигнал полиаденилирования SV40.

[000389] В подходящие клетки-хозяева для получения антител можно встраивать один или более векторов (например, экспрессирующих векторов), содержащих нуклеиновые кислоты, кодирующие любые из антител. Клетки-хозяева можно культивировать в подходящих условиях для экспрессии антител или любой их полипептидной цепи. Такие антитела или полипептидные цепи можно выделять из культивируемых клеток (например, из клеток или супернатанта клеток) общепринятым способом, например, посредством аффинной очистки. При необходимости, полипептидные цепи антитела можно инкубировать в подходящих условиях в течение подходящего периода времени, делающего возможным получение антитела.

[000390] В некоторых вариантах осуществления способы получения антитела, представленного в настоящем описании, включают рекомбинантный экспрессирующий

вектор, кодирующий тяжелую цепь и легкую цепь антитела против TfR, как представлено в настоящем описании. Рекомбинантный экспрессирующий вектор можно встраивать в подходящую клетку-хозяина (например, клетку dhfr- CHO) общепринятым способом, например, посредством опосредованной фосфатом кальция трансфекции. Положительных трансформантов клеток-хозяев можно подвергать селекции и культивировать в подходящих условиях, делающих возможной экспрессию двух полипептидных цепей, образующих антитело, которое можно выделять из клеток или среды для культивирования. При необходимости, две цепи, выделенные из клеток-хозяев можно инкубировать в подходящих условиях, делающих возможным образование антитела. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин, используемая для экспрессии антител против TfR, представленных в настоящем описании, представляет собой клетки CHO-S (например, ThermoFisher, кат. № R80007).

[000391] В одном из примеров получают два рекомбинантных экспрессирующих вектора, один из которых кодирует тяжелую цепь антитела против TfR, а другой - легкую цепь антитела против TfR. Оба рекомбинантных экспрессирующих вектора можно встраивать в подходящую клетку-хозяина (например, клетку dhfr- CHO) общепринятым способом, например, посредством опосредованной фосфатом кальция трансфекции.

[000392] Альтернативно, каждый из экспрессирующих векторов можно встраивать в подходящие клетки-хозяева. Положительных трансформантов можно подвергать селекции и культивировать в подходящих условиях, делающих возможной экспрессию полипептидных цепей антитела. Если два экспрессирующих вектора встраивают в одни и те же клетки-хозяева, продуцируемое в них антитело можно выделять из клеток-хозяев или среды для культивирования. При необходимости, полипептидные цепи можно выделять из клеток-хозяев или среды для культивирования, а затем инкубировать в подходящих условиях, делающих возможным образование антитела. Если два экспрессирующих вектора встраивают в разные клетки-хозяева, каждый из них можно выделять из соответствующих клеток-хозяев или соответствующих сред для культивирования. Затем две полипептидные цепи можно инкубировать в подходящих условиях для образования антитела.

[000393] Для получения рекомбинантного экспрессирующего вектора, трансфекции клеток-хозяев, селекции трансформантов, культивирования клеток-хозяев и выделения антител из среды для культивирования используют стандартные способы молекулярной биологии. Например, некоторые антитела можно выделять посредством аффинной хроматографии с протеином А или протеином G.

[000394] Любые из нуклеиновых кислот, кодирующих тяжелую цепь, легкую цепь или обе из антитела против TfR, как представлено в настоящем описании (например, как представлено в таблице 6), содержащие их векторы (например, экспрессирующие векторы); и клетки-хозяева, содержащие векторы, входят в объем настоящего изобретения.

Таблица 6. Последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие VH/VL антител против TfR, приведены в таблице 1

Антитело	Последовательность нуклеиновой кислоты VH/VL
3-A4	<p>VH</p> <p>GAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTTGTGAGGCCAGGGGC CTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGCTTCTGGCTTTAACATTAAGACGA CTATATGTA CTGGGTGAAGCAGAGGCCTGAGCAGGGCCTGGAGTGGA TTGGATGGATTGATCCTGAGAATGGTGATACTGAATATGCCTCGAAGT TCCAGGACAAGGCCACTGTAACAGCAGACACATCCTCCAACACAGCC TACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTAC TGTA CTTTATGGTTACGCCGAGGGTTGGACTACTGGGGTCAAGGAACC TCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 188)</p> <p>VL</p> <p>GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGA GAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGT AATGGCTACACTTACTTGT TTTGGTTCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCT CCTCAGCTCCTGATATATCGGATGTCCAACCTTGCCTCAGGAGTCCCA GACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCAGGAACTGCTTTCACACTGAGAAT CAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAAC ATCTAGAATATCCGTTACGTTTCGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATA AAA (SEQ ID NO: 189)</p>
3-M12	<p>VH</p> <p>GATGTACAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGGCCTCGTGAAACCTTCTCAG TCTCTGTCTCTCACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCACCAGTGGTT ATTACTGGA ACTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAATGG ATGGGCTACATAACCTTCGATGGTGCCAATAACTACAACCCATCTCTC AAAAATCGCATCTCCATCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTTTC CTGAAGTTGACTTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGT ACAAGATCCTCCTATGATTACGACGTCCTTGACTACTGGGGCCAAGGC ACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 190)</p> <p>VL</p> <p>GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGA GACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTT TTTAAACTGGTATCAGCAGAGACCAGATGGA ACTGT TAACTCCTGAT CTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGG</p>

	<p>CAGTGGGTCTGGGACAGATTTTTCTCTCACCGTTAGCAACCTGGAGCA AGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTCATACGCTTCCGTA CACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 191)</p>
5-H12	<p>VH CAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGTTGGTGAGGCCTGGGGC TTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACTCCTTCACTGACTA CTGTATAAATTGGGTGAATCAGAGGCCTGGACAGGGACTTGAGTGGA TTGGATGGATTTATCCTGGAAGCGGTAATACTAGGTACAGTGAGAGG TTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACACATCTTCCAACACAGC CTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTT CTGTGCAAGAGAGGATTACTATCCGTACCATGGTATGGACTACTGGG GTCAAGGCACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 192)</p> <p>VL GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAACCTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGG CAGAGGGCCACCATATCCTGCAGAGCCAGTGAAAGTGTTGATGGTTA TGACAATAGTTTTATGCACTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCAC CCAAACTCCTCATCTTTCGTGCATCCAACCTAGAATCTGGGATCCCTG CCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTAGGACAGACTTCACCCTCACCATTA ATCCTGTGGAGGCTGCTGATGTTGCAACCTATTACTGTCAGCAAAGTA GTGAGGATCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 193)</p>
8-K6	<p>VH CAGGTCCACCTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTTGTGAAGCCTGGGGC TTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTACCAGCTA CTGGATAACCTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGA TTGGAGATATTTTTCCTAATAGTGGTAGAACTAACTACGATGAGAAGT TCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACACATCCTCCAGCACCGCC TACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTT TGTGCAAGGGAGGGAAACTTCGGTAGTCTTGACTACTGGGGCCAAGG CACCCTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 194)</p> <p>VL CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGG GAGAAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAACTCAAATTTAAATTACAT GAACTGGTACCACCAGAAGTCAGGCACCTCCCCCAAAGATGGATTT ATGACACATCCAAACTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTCAGTGCCA</p>

	<p>GTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTG AAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTAGAAACCCTCTCA CGTTCGGTGCTGGGACCAGGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO: 195)</p>
9-K23	<p>VH CAGGTCACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGGATGTTGCAGCCCTCCCAG ACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCTGGGTTTTCACTGAACACTTATG ATGTGGGTGTAGGTTGGATTTCGTCAGCCTTCAGGGAAGGGTCTGGAGT GGCTGGCCAACATTTGGTGAATGATGATAAGTACTATAACTCAGCCC TGAAGAGCCGGCTCACAATCTCCAAGGATACCTCCAACAACCAGGTC TTCTCAAGATCTCCAGTGTGGACACTGCAGATACTGCCACATACTAC TGTACCCTATATAGTTACGACGGAGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGG ACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 196)</p> <p>VL CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCTAGGG GAACGGGTCAACATGACCTGCACTGCCAGTCAAGTGTAAGTTCCAGT TACTTGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGATCCTCCCCCAAACCTCTGG ATTTATAGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCAGCTCGCTTCAGT GGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAG GCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCACCAGTATCATCGTTCCCCG TACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 197)</p>
3-E5	<p>VH GAGATCCAGATGAAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGC TTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGTTACTCATTCACTGGCTA CAATATGAACTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGA TTGGAAATATTAATCCTTACTATGGTAGTACTGGCTACAATCAGAAAT TCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAATCTTCCAGCACAGCC TACATGCAGCTCAACAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTAC TGTGCAAGAGGGGACTATGGTTACGACGAGGGGACCTGGTTTGCTTA CTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 198)</p> <p>VL GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTGGCTGTGTCAGCAGGA GAGAAGGTCACTATGAGCTGCAAATCCAGTCAGAGTCTGCTCAACAG TAGAACCCGAAAGAACTACTTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGAGC AGTCTCCTAAACTGCTGATCTACTGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGG</p>

	<p>TCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCA CCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGCAAGC AATCTTATAATCTTCCATTACGTTCCGGCTCGGGGACAAAATTGGAAA TAAAA (SEQ ID NO: 199)</p>
6-D3	<p>VH CAGGTCCA ACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTTGTGAAGCCTGGGGC TTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGGCA CTGGATAACCTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGA TTGGAGATATTTATCCTGGTAGTGGTAGAACTAACTACAATGAGAAGT TCAAGAGCACGGCCACACTGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCC TACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTAC TGTGCACGAGACGGTTACTTATATATAAACTACTTTGACTACTGGGGC CAAGGAACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 200)</p> <p>VL GAAAATGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGG GAAAAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTTCAT GCACTGGTTCCAGCAGAAGTCAAGCACCTCCCCAAACTCTGGATTTA TGACACATCCAAACTGGCTTCTGGAGTCCCAGGTCGCTTCAGTGGCAG TGGGTCTGGAAGCTCTTACTCTCTCACGATCAGCAGCATGGCGGCTGA AGATGTTGCCACTTATTACTGTTTTCAGGGGAGTGGGTACCCGTACAC GTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 201)</p>
4-O12	<p>VH GAGGTT CAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTTGTGAGGCCAGGGGC CTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGCTTCTGGCTTTAACATTGTAGACGA CTATATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGA TTGGATGGATTTATCCTGAGAATGCTGATACTGAATATGCCTCGAAGT TCCAGGGCAAGGCCACTATAACAGCAGACACATCCTCCAACACAGCC TACCTGCAGCTCAGCAGCCTAACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTAC TGTA CTACCGCCACTGGGACGGGCTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGG ACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 202)</p> <p>VL GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTTGTCGGTTACCATTGGA CAACCAGCCTCCATCTCTTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTAGATAGT GATGGAAAGACATATTTGAATTGGTTGTTTCAGAGGCCAGGCCAGTCT CCAAAGCGCCTAATCTATCTGGTGTCTAAACTGGACTCTGGAGTCCCT</p>

	<p>GACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTCACACTGAAAAT CAGCAGAGTGGAGACTGAGGATTTGGGAGTTTATTATTGCTGGCAAG GTACACATTTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCGCCAAGCTGGAAATC AAA (SEQ ID NO: 203)</p>
4-C5	<p>VH CAGGTTCACTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGATGAAGCCTGGGGC CTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTACTGGCTACACATTCAGTAACTA CTGGATAGAGTGGGTAAAGCAGAGGCCTGGACATGGCCTTGAGTGGA TTGGAGAGATTTTACCTGGAAGTGGTAGTACTAACTATAATGAGA ACTTCAAGGGCAAGGCCACATTCAGTGCAGATACATCCTCCAACACAGCC TACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTATTAC TGTGCACGAAGGGGGGCCTATGGTAACTTTCAGTACTGGGGCCAAGG CACCCTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 204)</p>
	<p>VL GAAATTGTGCTCACCCAGTCTCCAGCACTCATGGCTGCATCTCCAGGG GAGAAGGTCACCATCACCTGCAGTGTGAGCTCAAGTATAAGTTCAG CAACTTGCAGTGGTACCAGCAGAAGTCAGAAACCTCCCCCAAACCT GGATTTATGGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTGTTTCGCTTCA GTGGCAGTGGATCTGGGACCTCTTATTCTCTCACAATCAGCAGCATGG AGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGTCAACAGTGGCGTAGTTACC CGTACACGTTCCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 205)</p>
10-P5	<p>VH GAGGTCCAGCTGCAACAGTTTGGAGCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGC TTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTCAGTACTA CAACATGGCCTGGGTGAAGGAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGA TTGGAGATATTAATCCTAACTATGATACTACTAGCTACAACCAGAAGT TCAAGGGAAAGGCCACATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCC CACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTGAGGGCACTGCAGTCTATTAC TGTGCAAGATCGGGTTACTACGGTAGTAGCTACTACTGGCACTTCGAT GTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 206)</p>
	<p>VL GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTAGCTGTGTCAGTTGGA GAGAAGGTTACTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGCCTTTTATATAGT AGCAATCAAAGAAGTACTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCA</p>

	<p>GTCTCCTAAACTGCTGATTTACTGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGGT CCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAC CATCAGCAGTGTGAAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAGCA ATATTATAACTATCCATTCACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAT AAAA (SEQ ID NO: 207)</p>
2-H19	<p>VH GAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAGCTAGTGAGGTCAGGGGC CTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGCTTCTGGCTTCAACATTAAGACTA CTATATGCACTGGGTGAAACAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGA TTGGATGGATTGATCCTGAGAGTGGTGATACTGAATATGCCCCGAAGT TCCAGGGCAGGGCCACTATGACTGCAGACACATCCTCCAACACAGCC TACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTAC TGTTATGGACATGATTATAGGGTGGACTGCTGGGGTCAAGGAACCTC AGTCACTGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 208)</p>
	<p>VL GATGTTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGA GATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGT AATGGAAACACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCT CCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCA GACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGAT CAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAG TACACATATTCCGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCA AA (SEQ ID NO: 209)</p>
3-F3	<p>VH GAGGTCCAGTTGCAACAGTTTGGAGCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGC TTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTCACTGACTA CAACATGGGCTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGA TTGGAGATATTAATCCTAACTATGATAGTACTAGCTACACCCAGAAGT TCAAGGGAAAGGCCACATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCC TACATGGAACTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCAGTCTATTAC TGTGCAAGATCGGGTTACTACGGTAGTAGCTACTACTGGCACTTCGAT GTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 210)</p>
	<p>VL GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTAGCTGTGTCAGTTGGA GAGAAGGTTACTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGCCTTTTATATAGT</p>

	<p>AGCAATCAAAGAAGAACTACTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCA GTCTCCTAAACTGCTGATTTACTGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGGT CCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAC CATCAGCAGTGTGAAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAACA ATATTATCACTATCCATTCACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAAT AAAA (SEQ ID NO: 211)</p>
8-O17	<p>VH CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACA GAGCCTGTCCATCACATGCACCGTCTCAGGGTTCTCATTAAACCAACTA TGGTGTTCCTACTGGGTTTCGCCAGCCTCCAGGGAAGGGTCTGGAATGGCT GGTCGTGATATGGAATGATGGAAGCGCAACCTATAATTCAGCTCTCG AATCCAGACTGAGCATCAGCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTTC TTAAAAATGAACAGTCTCCAAACTGATGACACAGCCATGTACTACTGT GCCAGACATGAATCTAGTAACCCGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACT CTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 212)</p> <p>VL GACATCTTGCTGACTCAGTCTCCAGCCATCCTGTCTGTGAGTCCAGGA GAAAGAGTCAGTTTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGCATTGGCACAAG CATCCACTGGTATCAGCAAAGAACAAATGGCTCTCCAAGGCTTCTCAT AAAGTCTGCTTCTGAGTCTATCGCTGGGATTCCTTCCAGGTTTAGTGG CAGTGGATCAGGGACAGATTTTACTCTTAGCATCAACAGTGTGGAGTC TGAAGATATTGCAGATTACTGTCAACAAAATAATAGGTGGCCGTA CACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 213)</p>
3-M9	<p>VH GAGGTTCACTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTTGTGAGGCCAGGGGC CTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGCTTCTGACTTTAACATTAAAGACGA CTATATACATTGGGTGAAACAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGA TTGGAAGGATTGATCCTGCGAATGGTAATACTAAATATGCCCCGAAGT TCCAGGACAAGGCCACTATAACTGCAGACACATCCTCCAACACAGCC TACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACTTCTGAGGACACTGCCGTCTATTAC TGTGCTCTGGGCTACACCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTC TCCTCA (SEQ ID NO: 214)</p> <p>VL GATGTTGTGATGACTCAGACCCCACTCACTTTGTCGGTTACCATTGGA CAACCAGCCTCCATCTCTTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTACATAGT</p>

	<p>TATGGAAAGACATATTTGAATTGGTTATTACAGAGGCCAGGCCAGTCT CCAAAGCTCCTAATCTATCTGGTGTCTAAACTGGAATCTGGAGTCCCT GACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTGAAAAT CAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTACTGCTTGCAA CTACACATTTTCCTCAGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCA AG (SEQ ID NO: 215)</p>
10-H2	<p>VH GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGG GTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTACTAT GGAATGCACTGGGTTTCGTCAGGGTCCAGAGAAGGGGCTGGAGTGGGT TGCATACATTAATAGTGGCAGTAGTACCATCTACTATGCAGACACAGT GAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGT TCCTGCAAATGACCAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACT GTGCAAGGCCGGGGGATTACGACAACCTATGCTATGGACTACTGGGGT CAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 216)</p>
	<p>VL GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCCTGTCCACATCAGTAGGA GACAGGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGTGTTC TGTAGCCTGGTATCAACAAAACCAGGGCAATCTCCTAAACTACTGAT TACTGGGCATACACCCGGCACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGG CAGTGGATCTGGGACAGAATATACTCTCACCATCAGCAGTGTGCAGG CTGAAGACCTGGCACTTTATTACTGTCAGCAACATTATAACTCCTC CGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 217)</p>
4-J22	<p>VH GAGGTTTCAGCTGCAACAGTCTGGGGCAGAGCTTGTGAGGTCAGGGGC CTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGCTTCTGGCTTCAACATTAAGACTA CTATATACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGA TTGGATGGATTGATCCTGAGAATGCTGATACTGAATATGCCCCGAAGT TCCAGGGCAAGGCCACTATGACTCCAGACACATCCTCCAACACAGCC TACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTAC TGTTATGCCTGGGACTATTCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCA GTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 218)</p>
	<p>VL GATGTTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCTGTCTGTCAGTCTTGGA</p>

	<p>GATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGT AATGGAAACACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCGGGCCAGTCT CCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCA GACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTCATACTCAAGAT CAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAA TACACATGTTCCGTACACGTTCCGGAGGGGGGACCAGGCTGGAAATAA AA (SEQ ID NO: 219)</p>
9-D4	<p>VH CAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAACTGAGCTGGCGAGGCCTGGGGC TTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTTCACCTTCACAGACTA TGGTATAAACTGGGTGAAACAGAGAACTGGACAGGGCCTTGAGTGG TTGGAGAGATTTATCCTAGCAGTGGTAATTCTTACTACAATGAGAAAT TCAAGGCCAAGGCCCACTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCG TACATGGAGCTCCGCAGTCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTTC TGTGCAAGATCGACTTACTACGGTAGCCCAATTGACTACTGGGGCCAA GGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 220)</p>
	<p>VL GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACACCAGTAGGA GACAGGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGGATACTAC TGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCGAAACTACTGA TTTACTGGGCATCCACCCGGCAAATTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAG GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATTAGTAATGTGCAGT CTGAAGACTTGGCAGATTATTTCTGTCAGCAATATAGCACCTATCCTC TGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 221)</p>
8-D15	<p>VH CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACA GAGCCTGTCCATTACATGCACTGTCTCTGGGTTCTCATTGACCAGCTA TGCTATAACCTGGGTTCCGCCAGTCACCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGC TTGGATTAATATGGACTGGTGGAGGCACAAATTATAATTCAGCGCTCA AATCCAGACTGAGCATCAGCAAAGACAACCTCCAAGAGTCAAGTTTTTC TTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGCCAGGTACTIONG TGCCAGAATCTATGATGGTACTACCGGTACTIONGATGTCTGGGGCAC AGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 222)</p>
	<p>VL CGTATTGTGTTGACCCAGACTCCCAAATTCCTGCTTGTATCAGCAGGA</p>

	<p>GACAGGGTTACCATGACCTGCAAGGCCAGTCAGAGTGTGAGTAATGATGTAGCTTGGTACCAACAGAAGCCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATATACTATGCATCCAATCGTTACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATATGGGACGGATTTCACTTTACCATCAGCACTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTTCTGTCAGCAGGATTATAGCTCTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 223)</p>
4-H4	<p>VH GAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAGCTTGTGAGGTCAGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGCTTCTGGCTTCAACATTAAGGACTACTATATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCCTGAACAGGGCCTGGACTGGA TTGGATGGATTGATCCTGAGAATGGTGATACTGAATATGCCCCGAAAT TCCAGGGCAAGGCCACTATGACTGCAGACACATCCTCCAACACAGCC TACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTAC TGTAATGTCCTTACTATGCCTACGGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTG GTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 224)</p> <p>VL GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTAGCTGTGTCAGTTGGA GAGAAGGTTATTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGCCTTTTATATAGT AGCAATCAAAAGAACTATTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCA GTCTCCTAAACTGCTGATTTACTGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGGT CCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAC CATCAGCAGTGTGAAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAGCA ATATTATAGCTATCCGTACACGTTCCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAA TAAAA (SEQ ID NO: 225)</p>
9-C4	<p>VH GAGGTGCAACTGATGGAATCTGGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGG GTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCATTTCACTAGCTAT GGCTTGTCTTGGGTTCCGCCAGACTCCAGACAAGAGGCTGGAGTGGGT CGCAACCATTACTAGTGGTGGTAGTTATACCTACTATCCAGACAGTGT GAAGGGGCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAGGAACACCCTGT ACCTGCAAATGTTCACTGCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACT GTGCACTATGGTCCCTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAG TCTCCTCA (SEQ ID NO: 226)</p> <p>VL CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGG</p>

	<p>GAGAAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAATTCAAGTTTAAGTTACATG CACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCACCTCCCCCAAAGATGGATTTA TGACACATCCGAAGCTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCAGTGGCAG TGGGTCTGGGACCTCTTATTCTCTCACAAATCAGCAGCATGGAGGCTGA AGATGCTGCCACTTATTAAGTCCATCAGCGGAGGAGTTACCCATGGAC GTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 227)</p>
--	---

[000395] В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR представляют собой гуманизированное антитело, содержащее VH, содержащий каркасные области человека с CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 антитела мыши, приведенные в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12), и VL, содержащий каркасные области человека с CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 антитела мыши, приведенные в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12), где антитело получают с помощью технологии рекомбинантных ДНК в суспензионной культуре клеток яичника китайского хомяка (CHO), необязательно, в суспензионной культуре клеток CHO-K1 (например, клетках CHO-K1, полученных из European Collection of Animal Cell Culture, кат. № 85051005).

[000396] В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR представляют собой IgG1 каппа, содержащий каркасные области человека с CDR антитела мыши, приведенными в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12), где антитело получают с помощью технологии рекомбинантных ДНК в суспензионной культуре клеток яичника китайского хомяка (CHO), необязательно, в суспензионной культуре клеток CHO-K1 (например, клетках CHO-K1, полученных из European Collection of Animal Cell Culture, кат. № 85051005).

[000397] В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR представляют собой Fab'-фрагмент IgG1 каппа, содержащий каркасные области человека с CDR антитела мыши, приведенными в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12), где антитело получают с помощью технологии рекомбинантных ДНК в суспензионной культуре клеток яичника китайского хомяка (CHO), необязательно, в суспензионной культуре клеток CHO-K1 (например, клетках CHO-K1, полученных из European Collection of Animal Cell Culture, кат. № 85051005).

IV. Комплексы

[000398] В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, можно использовать для доставки молекулярной нагрузки в целевую клетку или ткань (например, клетку или ткань, экспрессирующую TfR). Таким образом, некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к комплексам, содержащим любое из антител против TfR, представленных в настоящем описании (например, 3-A4, 3-M12 или 5-H12 в форме IgG или FAB, как показано в таблице 4 и таблице 5, и их варианты (например, гуманизированные варианты)), с молекулярной нагрузкой. Комплексы, представленные в настоящем описании, можно

использовать для различных целей, например, диагностических или терапевтических целей.

[000399] В некоторых вариантах осуществления комплекс содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с олигонуклеотидом (например, антисмысловым олигонуклеотидом). В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, используют для модуляции активности или функции по меньшей мере одного гена, белка и/или (например, и) нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка, находящаяся в комплексе, отвечает за модуляцию гена, белка и/или (например, и) нуклеиновых кислот. Молекулярная нагрузка может являться низкомолекулярным соединением, белком, нуклеиновой кислотой, олигонуклеотидом или любым веществом, способным модулировать активность или функцию гена, белка и/или (например, и) нуклеиновой кислоты в клетке. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом, нацеленным на ассоциированный с заболеванием повтор в мышечных клетках.

А. Молекулярная нагрузка

[000400] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к молекулярной нагрузке, например, для модуляции биологического исхода, например, транскрипции последовательности ДНК, экспрессии белка или активности белка, которую можно связывать с любым из антител против TfR, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления такая молекулярная нагрузка способна к таргетингу мышечной клетки, например, посредством специфического связывания с нуклеиновой кислотой или белком в мышечной клетке после доставки в мышечную клетку с помощью связанного антитела против TfR. Следует понимать, что в изобретении можно использовать различные типы молекулярной нагрузки. Например, молекулярная нагрузка может содержать или состоять из олигонуклеотидов (например, антисмыслового олигонуклеотида), пептида (например, пептида, связывающегося с нуклеиновой кислотой или белком, ассоциированным с заболеванием, в мышечной клетке), белка (например, белка, связывающегося с нуклеиновой кислотой или белком, ассоциированным с заболеванием, в мышечной клетке) или низкомолекулярного соединения (например, низкомолекулярного соединения, модулирующего функцию нуклеиновой кислоты или белка, ассоциированного с заболеванием в мышечной клетке).

[000401] В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом, содержащим цепь, имеющую область комплементарности гену, приведенному в таблице 7.

Таблица 7. Список мышечных заболеваний и соответствующих генов.

Гены-мишени редких мышечных заболеваний		
Заболевание	Обозначение гена	Инвентарный номер GenBank
Болезнь Помпе с поздним	GAA	NM_000152; NM_001079803;

началом		NM_001079804
Болезнь Помпе с поздним началом	GYS1	NM_001161587; NM_002103
Центронуклеарная миопатия (CNM)	DNM2	NM_001190716; NM_004945; NM_001005362; NM_001005360; NM_001005361; NM_007871
Мышечная дистрофия Дюшенна	DMD	NM_004023; NM_004020; NM_004018; NM_004012
Плече-лопаточно-лицевая мышечная дистрофия (FSHD)	DUX4	NM_001306068; NM_001363820; NM_001205218; NM_001293798
Семейная гипертрофическая кардиомиопатия	MYBPC3	NM_000256
Семейная гипертрофическая кардиомиопатия	MYH6	NM_002471; NM_001164171; NM_010856
Семейная гипертрофическая кардиомиопатия	MYH7	NM_000257; NM_080728
Семейная гипертрофическая кардиомиопатия	TNNI3	NM_000363
Семейная гипертрофическая кардиомиопатия	TNNT2	NM_001001432; NM_001001431; NM_000364; NM_001001430; NM_001276347; NM_001276346; NM_001276345
Прогрессирующая оссифицирующая фибродисплазия (FOP)	ACVR1	NM_001105; NM_001347663; NM_001347664; NM_001347665; NM_001347666; NM_001347667; NM_001111067
Атаксия Фридрейха (FRDA)	FXN	NM_001161706; NM_181425; NM_000144
Миопатия с тельцами включения 2	GNE	NM_001190383; NM_001190384; NM_001128227; NM_005476; NM_001190388
Дистальная миопатия Лэйнга	MYH7	NM_000257; NM_080728
Миофибриллярная миопатия	BAG3	NM_004281
Миофибриллярная миопатия	CRYAB	NM_001885; NM_001330379;

		NM_001289807; NM_001289808
Миофибриллярная миопатия	DES	NM_001927
Миофибриллярная миопатия	DNAJB6	NM_005494; NM_058246
Миофибриллярная миопатия	FHL1	NM_001159701; NM_001159699; NM_001159702; NM_001159703; NM_001159704; NM_001159700; NM_001167819; NM_001330659; NM_001449; NM_001077362
Миофибриллярная миопатия	FLNC	NM_001458; NM_001127487
Миофибриллярная миопатия	LDB3	NM_007078; NM_001171611; NM_001171610; NM_001080114; NM_001080115; NM_001080116
Миофибриллярная миопатия	MYOT	NM_001300911; NM_006790; NM_001135940
Миофибриллярная миопатия	PLEC	NM_201378; NM_201379; NM_201380; NM_201381; NM_201382; NM_201383; NM_201384; NM_000445
Миофибриллярная миопатия	TTN	NM_133432; NM_133379; NM_133437; NM_003319; NM_001256850; NM_001267550; NM_133378
Конгенитальная миотония (аутосомно-доминантная форма, болезнь Томсена)	CLCN1	NM_000083; NM_013491
Миотоническая дистрофия типа I	DMPK	NM_001081563; NM_004409; NM_001081560; NM_001081562; NM_001288764; NM_001288765; NM_001288766
Миотоническая дистрофия типа II	CNBP	NM_001127192; NM_001127193; NM_001127194; NM_001127195; NM_001127196; NM_003418
Миотубулярная миопатия	MTM1	NM_000252
Окулофарингеальная	PABPN1	NM_004643

мышечная дистрофия		
Конгенитальная парамиотония	SCN4A	NM_000334
Гены-мишени мышечной атрофии		
Обозначение гена	Инвентарный номер GenBank	Related Publications*
INHBA (также известный как EDF; FRP)	NM_002192; XM_017012175.1; XM_017012176.1; XM_017012174.1	Lee SJ, et al., Regulation of muscle mass by follistatin и activins., Mol Endocrinol. 2010 Oct;24(10):1998-2008. doi: 10.1210/me.2010-0127. Epub 2010 Sep 1.
FBXO32 (также известный как Fbx32; MAFbx)	NM_058229,3; NM_001242463.1; NM_148177.2	Bodine, S. C., et al., Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. Science 294: 1704-1708, 2001. Gomes, M. D., et al., Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy. Proc. Nat. Acad. Sci. 98: 14440-14445, 2001.
MSTN (также известный как GDF8; MSLHP)	NM_005259.2	Saunders, M. A., et al., Human adaptive evolution of myostatin (GDF8), a regulator of muscle growth. Am. J. Hum. Genet. 79: 1089-1097, 2006. Lin, J., et al., Myostatin knockout in mice increases myogenesis and decreases adipogenesis. Biochem. Biophys. Res. Commun. 291: 701-706, 2002. Wei Y, et al., Prevention of Muscle Wasting by CRISPR/Cas9-mediated Disruption of Myostatin In Vivo Volume 24, Issue 11, p1889-1891, November 2016
TRIM63 (также известный как IRF; SMRZ; MURF1; MURF2; RNF28)	NM_032588.3; XM_017002559.2	Höllriegel R, et al. Anabolic effects of exercise training in patients with advanced chronic heart failure (NYHA IIIb): impact on ubiquitin-protein ligases expression and skeletal muscle size. Int J Cardiol, 2013 Aug 10.

		Eddins MJ, et al. Targeting ubiquitin E3 ligase MuRF1 to inhibit muscle atrophy. Cell Biochem Biophys, 2011 Jun.
--	--	--

*Содержание процитированных ссылок включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

[000402] В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является средством для лечения неврологического нарушения. В рамках изобретения "неврологическое нарушение" относится к заболеванию или нарушению, поражающему ЦНС и/или (например, и) имеющему этиологию, связанную с ЦНС. Неограничивающие примеры заболеваний или нарушений ЦНС включают нейропатию, амилоидоз, злокачественное новообразование, заболевание или нарушение глаз, вирусную или микробную инфекцию, воспаление, ишемию, нейродегенеративное заболевание, судороги, поведенческие нарушения и лизосомальную болезнь накопления. В целях по изобретению, термин "ЦНС" будет включать глаз, в норме секвестрированный от остального организма гематоретинальным барьером. Конкретные неограничивающие примеры неврологических нарушений включают нейродегенеративные заболевания (включая, в качестве неограничивающих примеров, болезнь телец Леви, постполиомиелитный синдром, синдром Шая-Дрейджера, оливопонтocerebellарную атрофию, болезнь Паркинсона, множественную системную атрофию, стриатонигральную дегенерацию, таупатии (включая, в качестве неограничивающих примеров, болезнь Альцгеймера и надъядерный паралич), прионные болезни (включая, в качестве неограничивающих примеров, губчатую энцефалопатию крупного рогатого скота, почесуху, болезнь Крейтцфельда-Якоба, куру, синдром Герстманна-Штреусслера-Шейнкера, хроническую изнуряющую болезнь и фатальную семейную бессонницу), бульбарный паралич, болезнь двигательных нейронов и гетеродегенеративные нарушения нервной системы (включая, в качестве неограничивающих примеров, болезнь Канавана, болезнь Гентингтона, нейрональный цероидный липофусциноз, болезнь Александера, синдром Туретта, болезнь Менкеса, синдром Коккейна, болезнь Галлервордена-Шпатца, болезнь Лафора, синдром Ретта, гепатолентикулярную дегенерацию, синдром Леша-Нихана и синдром Унферрихта Лундборга), деменцию (включая в качестве неограничивающих примеров, болезнь Пика и спиноцереbellарную атаксию), злокачественное новообразование (например, злокачественное новообразование ЦНС, включая метастазы в головном мозге, являющиеся результатом злокачественного новообразования где-либо в организме). Неограничивающие примеры лекарственных средств для неврологических нарушений, которые можно конъюгировать с любым из антител против TfR, представленных в настоящем описании, и соответствующие состояния, которые можно лечить с помощью них, приведены в таблице 8.

Таблица 8. Примеры лекарственных средств для неврологических нарушений и состояний, подвергаемых лечению

Лекарственное средство	Неврологическое нарушение
Антитело против BACE1	Болезнь Альцгеймера, острое и хроническое повреждение головного мозга, инсульт
Антитело против амилоида бета	Болезнь Альцгеймера
Антитело против тау-белка	Болезнь Альцгеймера, таупатии
Нейротрофин	Инсульт, острое повреждение головного мозга, повреждение спинного мозга
Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), фактор роста фибробластов 2 (FGF-2)	Хроническое повреждение головного мозга (нейрогенез)
Антитело против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR)	Злокачественное новообразование головного мозга
Глиальный нейротрофический фактор (GDNF)	Болезнь Паркинсона
Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF)	Боковой амиотрофический склероз, депрессия
Лизосомальный фермент	Лизосомальные болезни накопления головного мозга
Цилиарный нейротрофический фактор (CNTF)	Боковой амиотрофический склероз
Нейрегулин-1	Шизофрения
Антитело против HER2 (например, трастузумаб, пертузумаб и т.д.)	Метастазы HER2-положительного рака в головном мозге cancer
Антитело против VEGF (например, бевацизумаб)	Рецидивирующая или недавно диагностированная глиобластома, рецидивирующая злокачественная глиома, метастазы в головном мозге

[000403] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна (например, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 10) молекулярная нагрузка (например, олигонуклеотиды) связана с любым из антител против TfR, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления вся молекулярная нагрузка, соединенная с антителом против TfR, является одинаковой, например, нацеленной на один и тот же ген. В некоторых вариантах осуществления вся молекулярная нагрузка, соединенная с антителом против TfR, является разной, например молекулярная нагрузка может быть нацелена на разные части одного и того же гена-мишени, или молекулярная нагрузка может быть нацелена на по меньшей

мере два разных гена-мишени. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, можно соединять с некоторой молекулярной нагрузкой, являющейся одинаковой, и некоторой молекулярной нагрузкой, которая отличается.

[000404] Настоящее изобретение также относится к композиции, содержащей множество комплексов, где по меньшей мере 80% (например, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%) комплексов содержат антитело против TfR, связанное с одинаковым количеством молекулярных нагрузок (например, олигонуклеотидов).

[000405] Примеры молекулярной нагрузки подробно представлены в настоящем описании, однако, следует понимать, что примеры молекулярной нагрузки, представленные в настоящем описании, не предназначены для ограничения.

i. Олигонуклеотиды

[000406] В качестве молекулярной нагрузки можно использовать любой подходящий олигонуклеотид, как представлено в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид можно конструировать так, чтобы вызывать деградацию мРНК (например, олигонуклеотид может являться гэдмером, миРНК, рибозимом или аптамером, вызывающим деградацию). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид можно конструировать для блокирования трансляции мРНК (например, олигонуклеотид может являться миксмером, миРНК или аптамером, блокирующим трансляцию). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид можно конструировать так, чтобы он вызывал деградацию и блокировал трансляцию мРНК. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может являться гидовой нуклеиновой кислотой (например, гидовой РНК) для направления активности фермента (например, фермента редактирования генома). Другие примеры олигонуклеотидов представлены в настоящем описании. Следует понимать, что в некоторых вариантах осуществления олигонуклеотиды в одном формате (например, антисмысловые олигонуклеотиды) можно соответствующим образом адаптировать под другой формат (например, олигонуклеотиды миРНК) посредством встраивания функциональных последовательностей (например, последовательностей антисмысловой цепи) из одного формата в другой формат. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может содержать область комплементарности гену-мишени, приведенному в таблице 7.

[000407] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может нацеливать lncRNA или мРНК, например, на деградацию. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может нацеливать, например, на деградацию, нуклеиновую кислоту, кодирующую белок, участвующий в пути репарации ошибочно спаренных оснований, например, MSH2, MutLalpha, MutSbeta, MutLalpha. Неограничивающие примеры белков, участвующих в путях репарации ошибочно спаренных оснований, на которые мРНК,

кодирующая такие белки, может быть нацелена с помощью олигонуклеотидов, представленных в настоящем описании, описаны в Iyer, R.R. et al., "DNA triplet repeat expansion and mismatch repair" *Annu Rev Biochem.* 2015;84:199-226.; и Schmidt M.H. и Pearson C.E., "Disease-associated repeat instability and mismatch repair" *DNA Repair (Amst).* 2016 Feb;38:117-26.

[000408] В некоторых вариантах осуществления любой из олигонуклеотидов может находиться в форме соли, например, соли натрия, калия или магния.

[000409] В некоторых вариантах осуществления 5'- или 3'- нуклеозид (например, концевой нуклеозид) любого из олигонуклеотидов, представленных в настоящем описании, конъюгирован с аминогруппой, необязательно, через спейсер. В некоторых вариантах осуществления спейсер содержит алифатический остаток. В некоторых вариантах осуществления спейсер содержит остаток полиэтиленгликоля. В некоторых вариантах осуществления фосфодиэфирная связь находится между спейсером и 5'- или 3'- нуклеозидом олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 5'- или 3'- нуклеозид (например, концевой нуклеозид) любых из олигонуклеотидов, представленных в настоящем описании, конъюгирован со спейсером, являющимся замещенным или незамещенным алифатическим, замещенным или незамещенным гетероалифатическим, замещенным или незамещенным карбоциклиленом, замещенным или незамещенным гетероциклиленом, замещенным или незамещенным ариленом, замещенным или незамещенным гетероариленом, -O-, -N(R^A)-, -S-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^A-, -NR^AC(=O)-, -NR^AC(=O)R^A-, -C(=O)R^A-, -NR^AC(=O)O-, -NR^AC(=O)N(R^A)-, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, -OC(=O)N(R^A)-, -S(O)₂NR^A-, -NR^AS(O)₂- или их комбинацией; каждый R^A независимо представляет собой атом водорода или замещенный или незамещенный алкил. В некоторых вариантах осуществления спейсер является замещенным или незамещенным алкиленом, замещенным или незамещенным гетероциклиленом, замещенным или незамещенным гетероариленом, -O-, -N(R^A)-, или -C(=O)N(R^A)₂ или их комбинацией.

[000410] В некоторых вариантах осуществления 5'- или 3'-нуклеозид любого из олигонуклеотидов, представленных в настоящем описании, конъюгирован с соединением формулы -NH₂-(CH₂)_n-, где n является целым числом от 1 до 12. В некоторых вариантах осуществления n составляет 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12. В некоторых вариантах осуществления фосфодиэфирная связь находится между соединением формулы NH₂-(CH₂)_n- и 5'- или 3'-нуклеозидом олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы NH₂-(CH₂)₆- конъюгировано с олигонуклеотидом посредством реакции между 6-амино-1-гексаноном (NH₂-(CH₂)₆-OH) и 5'-фосфатом олигонуклеотида.

[000411] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид конъюгированы со специфическим средством, например, мышечно-специфическое средство, таким как антитело против TfR, например, через аминогруппу.

а. Размер/последовательность олигонуклеотида

[000412] Олигонуклеотиды могут иметь разную длину, например, в зависимости от формата. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид имеет длину 7, 8, 9, 10,

11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 75 или более нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид имеет длину от 8 до 50 нуклеотидов, от 8 до 40 нуклеотидов, от 8 до 30 нуклеотидов, от 10 до 15 нуклеотидов, от 10 до 20 нуклеотидов, от 15 до 25 нуклеотидов, от 21 до 23 нуклеотидов и т.д.

[000413] В некоторых вариантах осуществления комплементарная последовательность нуклеиновой кислоты олигонуклеотида для целей по настоящему изобретению может специфически гибридизоваться или является специфической для целевой нуклеиновой кислоты, когда связывание последовательности с молекулой-мишенью (например, мРНК) препятствует нормальной функции мишени (например, мРНК), вызывая потерю активности (например, ингибирование трансляции) или экспрессии (например, деградацию мРНК-мишени), и существует достаточная степень комплементарности во избежание неспецифического связывания последовательности с нецелевыми последовательностями в условиях, в которых избегание неспецифического связывания является желательным, например, в физиологических условиях в случае анализа *in vivo* или терапевтического лечения, и в случае анализов *in vitro* в условиях, в которых анализы осуществляют в подходящих условиях строгости. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может являться по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% комплементарным последовательным нуклеотидам целевой нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления комплементарная нуклеотидная последовательность может не являться на 100% комплементарной последовательности своей мишени, чтобы иметь возможность специфически гибридизоваться или являться специфической целевой нуклеиновой кислоты.

[000414] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит область комплементарности целевой нуклеиновой кислоте, имеющую длину в диапазоне от 8 до 15, от 8 до 30, от 8 до 40, или от 10 до 50, или от 5 до 50, или от 5 до 40 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления область комплементарности олигонуклеотида целевой нуклеиновой кислоте имеет длину 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления область комплементарности является комплементарной по меньшей мере 8 последовательным нуклеотидам целевой нуклеиновой кислоте. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может содержать 1, 2 или 3 неправильно спаренных оснований по сравнению с частью последовательных нуклеотидов целевой нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может содержать до 3 неправильно

спаренных оснований на 15 оснований или до 2 неправильно спаренных оснований на 10 оснований.

[000415] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид является комплементарным (например, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или 100%) целевой последовательности любого из олигонуклеотидов, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления такая целевая последовательность является на 100% комплементарной олигонуклеотиду, представленному в настоящем описании.

[000416] В некоторых вариантах осуществления любое одно или более тиминового оснований (T) в любом из олигонуклеотидов, представленных в настоящем описании, необязательно, могут являться урациловыми основаниями (U), и/или любое одно или более из U, необязательно, могут являться T.

в. Модификации олигонуклеотидов:

[000417] Олигонуклеотиды, представленные в настоящем описании, могут являться модифицированными, например, содержать модифицированный сахар, модифицированную межнуклеозидную связь, модифицированный нуклеотид и/или (например, и) их комбинации. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления олигонуклеотиды могут проявлять одно или более из следующих свойств: не опосредуют альтернативный сплайсинг; не являются иммуностимуляторными; являются резистентными к нуклеазам; имеют улучшенный клеточный захват по сравнению с немодифицированными олигонуклеотидами; не являются токсичными для клеток или млекопитающих; имеют улучшенный эндосомальный выход внутрь клетки; минимизируют стимуляцию TLR или избегают рецепторов распознавания паттернов. Любые из модифицированных химических составов или форматов олигонуклеотидов, представленных в настоящем описании, можно комбинировать друг с другом. Например, в один олигонуклеотид можно включать один, два, три, четыре, пять или более различных типов модификаций.

[000418] В некоторых вариантах осуществления можно использовать некоторые модификации нуклеотидов, которые делают олигонуклеотид, в который их вносят, более резистентными к расщеплению нуклеазами, чем нативные молекулы олигодезоксинуклеотидов или олигорибонуклеотидов; эти модифицированные олигонуклеотиды остаются интактными в течение большего периода времени, чем немодифицированные олигонуклеотиды. Конкретные примеры модифицированных олигонуклеотидов включают олигонуклеотиды, содержащие модифицированные остовы, например, модифицированные межнуклеозидные связи, такие как фосфотиоаты, фосфотриэфиры, метилфосфонаты, короткоцепочечные алкильные или циклоалкильные связи между сахарами или короткоцепочечные гетероатомные или гетероциклические связи между сахарами. Таким образом, олигонуклеотиды по изобретению можно стабилизировать против нуклеолитической деградации, например, посредством включения модификации, например, модификации нуклеотида.

[000419] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может иметь длину до 50 или до 100 нуклеотидов, где от 2 до 10, от 2 до 15, от 2 до 16, от 2 до 17, от 2 до 18, от 2 до 19, от 2 до 20, от 2 до 25, от 2 до 30, от 2 до 40, от 2 до 45 или более нуклеотидов олигонуклеотида являются модифицированными нуклеотидами. Олигонуклеотид может иметь длину от 8 до 30 нуклеотидов, где от 2 до 10, от 2 до 15, от 2 до 16, от 2 до 17, от 2 до 18, от 2 до 19, от 2 до 20, от 2 до 25, от 2 до 30 нуклеотидов олигонуклеотида являются модифицированными нуклеотидами. Олигонуклеотид может иметь длину от 8 до 15 нуклеотидов, где от 2 до 4, от 2 до 5, от 2 до 6, от 2 до 7, от 2 до 8, от 2 до 9, от 2 до 10, от 2 до 11, от 2 до 12, от 2 до 13, от 2 до 14 нуклеотидов олигонуклеотида являются модифицированными нуклеотидами. Необязательно, олигонуклеотиды могут содержать все нуклеотиды в модифицированном виде, за исключением 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов. Модификации олигонуклеотидов представлены в настоящем описании.

с. Модифицированные нуклеозиды

[000420] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, представленный в настоящем описании, содержит по меньшей мере один нуклеозид, модифицированный в 2'-положении сахара. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит по меньшей мере один 2'-модифицированный нуклеозид. В некоторых вариантах осуществления все нуклеозиды в олигонуклеотиде являются 2'-модифицированными нуклеозидами.

[000421] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, представленный в настоящем описании, содержит один или более небциклических 2'-модифицированных нуклеозидов, например, 2'-дезоксид, 2'-фтор (2'-F), 2'-О-метил (2'-O-Me), 2'-О-метоксиэтил (2'-MOE), 2'-О-аминопропил (2'-O-AP), 2'-О-диметиламиноэтил (2'-O-DMAOE), 2'-О-диметиламинопропил (2'-O-DMAP), 2'-О-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-O-DMAEOE), или 2'-О-N-метилацетамидо (2'-O-NMA) модифицированных нуклеозидов.

[000422] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, представленный в настоящем описании, содержит один или более 2'-4'-бициклических нуклеозидов, в которых кольцо рибозы содержит мостиковый остаток, соединяющий два атома в кольце, например, соединяющий атом 2'-О с атомом 4'-С через метиленовый мостик (ЗНК), этиленовый мостик (ЕНА) или (S)-затрудненный этил (сEt). Примеры ЗНК описаны в публикации международной патентной заявки № WO/2008/043753, опубликованной 17 апреля 2008 года и названной "RNA Antagonist Compounds For The Modulation Of PCSK9", содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. Примеры ЕНА приведены в международной патентной публикации № WO 2005/042777, опубликованной 12 мая 2005 года и названной "APP/ENA Antisense"; Morita et al., *Nucleic Acid Res.*, Suppl 1:241-242, 2001; Surono et al., *Hum. Gene Ther.*, 15:749-757, 2004; Koizumi, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 8:144-149, 2006 и Horie et al., *Nucleic Acids Symp. Ser (Oxf)*, 49:171-172, 2005; описания которых включены в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. Примеры сEt приведены в патентах США №№ 7101993; 7399845

и 7569686, каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

[000423] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит модифицированный нуклеозид, описанный в одном из следующих патентов США или публикациях патентных заявок: патенте США 7399845, выданном 15 июля 2008 года и названном "6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs"; патенте США № 7741457, выданном 22 июня 2010 года и названном "6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs "; патенте США № 8022193, выданном 20 сентября 2011 года и названном "6-Modified Bicyclic Nucleic Acid Analogs"; патенте США № 7569686, выданном 4 августа 2009 года и названном "Compounds And Methods For Synthesis Of Bicyclic Nucleic Acid Analogs"; патенте США № 7335765, выданном 26 февраля 2008 года и названном "Novel Nucleoside And Oligonucleotide Analogues"; патенте США № 7314923, выданном 1 января 2008 года и названном "Novel Nucleoside And Oligonucleotide Analogues"; патенте США № 7816333, выданном 19 октября 2010 года и названном "Oligonucleotide Analogues And Methods Utilizing The Same" и патентной публикации США № 2011/0009471, теперь патент США № 8957201, выданный 17 февраля 2015 года и названный "Oligonucleotide Analogues And Methods Utilizing The Same", содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме для всех целей.

[000424] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеозид, приводящий к повышению T_m олигонуклеотида в диапазоне 1°C, 2°C, 3°C, 4°C или 5°C по сравнению с олигонуклеотидом, не имеющим по меньшей мере один модифицированный нуклеозид. Олигонуклеотид может содержать множество модифицированных нуклеозидов, что приводит к общему повышению T_m олигонуклеотида в диапазоне 2°C, 3°C, 4°C, 5°C, 6°C, 7°C, 8°C, 9°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C или более по сравнению с олигонуклеотидом, не содержащим модифицированный нуклеозид.

[000425] Олигонуклеотид может содержать смесь нуклеозидов разных типов. Например, олигонуклеотид может содержать смесь 2'-дезоксирибонуклеозидов или рибонуклеозидов и 2'-фтор модифицированных нуклеозидов. Олигонуклеотид может содержать смесь дезоксирибонуклеозидов или рибонуклеозидов и 2'-О-Ме-модифицированных нуклеозидов. Олигонуклеотид может содержать смесь 2'-фтор-модифицированных нуклеозидов и 2'-О-Ме-модифицированных нуклеозидов. Олигонуклеотид может содержать смесь 2'-4'-бициклических нуклеозидов и 2'-МОЕ, 2'-фтор, или 2'-О-Ме модифицированных нуклеозидов. Олигонуклеотид может содержать смесь небциклических 2'-модифицированных нуклеозидов (например, 2'-МОЕ, 2'-фтор или 2'-О-Ме) и 2'-4'-бициклических нуклеозидов (например, ЗНК, ЕНА, сEt).

[000426] Олигонуклеотид может содержать чередующиеся нуклеозиды разных типов. Например, олигонуклеотид может содержать чередующиеся 2'-дезоксирибонуклеозиды или рибонуклеозиды и 2'-фтор-модифицированные нуклеозиды. олигонуклеотид может содержать чередующиеся дезоксирибонуклеозиды или

рибонуклеозиды и 2'-О-Ме-модифицированные нуклеозиды. Олигонуклеотид может содержать чередующиеся 2'-фтор-модифицированные нуклеозиды и 2'-О-Ме-модифицированные нуклеозиды. Олигонуклеотид может содержать чередующиеся 2'-4'-бициклические нуклеозиды и 2'-МОЕ, 2'-фтор, или 2'-О-Ме-модифицированные нуклеозиды. Олигонуклеотид может содержать чередующиеся небциклические 2'-модифицированные нуклеозиды (например, 2'-МОЕ, 2'-фтор или 2'-О-Ме) и 2'-4'-бициклических нуклеозидов (например, ЗНК, ENA, cEt).

[000427] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, представленный в настоящем описании, содержит 5'-винилфосфонатную модификацию, один или более абазических остатков и/или один или более инвертированных абазических остатков.

d. Межнуклеозидные связи/остовы

[000428] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может содержать фосфотиоатную или другую модифицированную межнуклеозидную связь. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит фосфотиоатные межнуклеозидные связи. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит фосфотиоатные межнуклеозидные связи между по меньшей мере двумя нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит фосфотиоатные межнуклеозидные связи между всеми нуклеотидами. Например, в некоторых вариантах осуществления олигонуклеотиды содержат модифицированные межнуклеозидные связи в первой, второй и/или (например, и) третьей межнуклеозидной связи на 5'- или 3'-конце нуклеотидной последовательности.

[000429] Фосфорсодержащие связи, которые можно использовать, включают, в качестве неограничивающих примеров, фосфотиоаты, хиральные фосфотиоаты, фосфородитиоаты, фосфотриэфиры, аминоалкилфосфотриэфиры, метил- и другие алкил-фосфонаты, содержащие 3'-алкиленфосфонаты и хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфорамидаты, содержащие 3'-аминофосфорамидат и аминоалкилфосфорамидаты, тионофосфорамидаты, тионоалкилфосфонаты, тионоалкилфосфотриэфиры и боранофосфаты, имеющие нормальные 3'-5' связи, их 2'-5'-связанные аналоги и соединения, имеющие инвертированную полярность, где смежные пары нуклеозидных единиц связаны от 3'-5' к 5'-3' или от 2'-5' к 5'-2'; см. патенты США №№ 3687808; 4469863; 4476301; 5023243; 5177196; 5188897; 5264423; 5276019; 5278302; 5286717; 5321131; 5399676; 5405939; 5453496; 5455233; 5466677; 5476925; 5519126; 5536821; 5541306; 5550111; 5563253; 5571799; 5587361 и 5625050.

[000430] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотиды могут содержать гетероатомные остовы, такие как метилен(метилямино)-остовы или ММІ-остовы; амидные остовы (см. De Mesmaeker et al. *Acc. Chem. Res.* 1995, 28:366-374); морфолиновые остовы (см. Summerton and Weller, патент США № 5034506); или остовы из пептид-нуклеиновой кислоты (ПНК) (где фосфодиэфирный остов олигонуклеотида заменяют полиамидным остовом, где нуклеотиды связаны прямо или косвенно с атомами азота аза-групп полиамидного остова, см. Nielsen et al., *Science* 1991, 254, 1497).

е. Стереоспецифические олигонуклеотиды

[000431] В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидные атомы фосфора олигонуклеотидов являются хиральными, и свойства олигонуклеотидов корректируют с учетом конфигурации хиральных атомов фосфора. В некоторых вариантах осуществления можно использовать соответствующие способы для синтеза Р-хиральных аналогов олигонуклеотидов стереоконтролируемым образом (например, как описано в Oka N, Wada T, "Stereocontrolled synthesis of oligonucleotide analogs containing chiral internucleotidic phosphorus atoms", Chem Soc Rev. 2011 Dec; 40(12):5829-43). В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к фосфотиоат-содержащим олигонуклеотидам, содержащим нуклеозидные единицы, соединенные с помощью, по существу, полностью Sp-связей между сахарами или, по существу, полностью Rp-связей между сахарами. В некоторых вариантах осуществления такие фосфотиоатные олигонуклеотиды, имеющие, по существу, хирально чистые связи между сахарами, получают посредством ферментативного или химического синтеза, как описано, например, в патенте США № 5587261, опубликованном 12 декабря 1996 года, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления хирально контролируемые олигонуклеотиды представляют собой паттерны селективного расщепления целевой нуклеиновой кислоты. Например, в некоторых вариантах осуществления хирально контролируемый олигонуклеотид обеспечивает расщепление по одному участку в комплементарной последовательности нуклеиновой кислоты, как описано, например, в публикации патентной заявки США № 2017/0037399 A1, опубликованной 2 февраля 2017 года, названной "CHIRAL DESIGN", содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

ф. Морфолиновые олигонуклеотиды

[000432] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может представлять собой морфолиновые соединения. Морфолиновые олигомерные соединения описаны в Dwaine A. Braasch and David R. Corey, Biochemistry, 2002, 41(14), 4503-4510; Genesis, volume 30, 3 issue 2001 года; Heasman, J., Dev. Biol., 2002, 243, 209-214; Nasevicius et al., Nat. Genet., 2000, 26, 216-220; Lacerra et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 2000, 97, 9591-9596 и патенте США № 5034506, опубликованном 23 июля 1991 года. В некоторых вариантах осуществления морфолиновое олигомерное соединение является фосфоамидатным морфолиновым олигомером (PMO) (например, как описано в Iverson, Curr. Opin. Mol. Ther., 3:235-238, 2001; и Wang et al., J. Gene Med., 12:354-364, 2010; содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме).

г. Пептид-нуклеиновые кислоты (ПНК)

[000433] В некоторых вариантах осуществления сахар и межнуклеозидная связь (остов) нуклеотидных единиц олигонуклеотида заменяют новыми группами. В некоторых вариантах осуществления сохраняют основания для гибридизации с соответствующей целевой нуклеиновой кислотой. Один из таких олигомерных соединений,

олигонуклеотидным миметиком, который, как показано, имеет исключительные свойства гибридизации, обозначают как пептид-нуклеиновая кислота (ПНК). В соединениях ПНК сахарный остов олигонуклеотида заменяют амид-содержащим остовом, например, аминоэтилглициновым остовом. Нуклеиновые основания удерживаются и связываются прямо или косвенно с атомами азота аза-группы амидной части остова. Типичные публикации, в которых описано получение соединений ПНК, включают, в качестве неограничивающих примеров, патенты США № 5539082; 5714331 и 5719262, каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки. Дополнительное описание соединений ПНК можно найти в Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500.

h. Гэпмеры

[0001] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, представленный в настоящем описании, является гэпмером. Гэпмерный олигонуклеотид, как правило, имеет формулу $5'-X-Y-Z-3'$, при этом X и Z являются фланкирующими областями вокруг области пропуска Y. В некоторых вариантах осуществления фланкирующую область X формулы $5'-X-Y-Z-3'$ также обозначают как область X, фланкирующую последовательность X, 5'-фланкирующую область X или 5'-фланкирующий сегмент. В некоторых вариантах осуществления фланкирующую область Z формулы $5'-X-Y-Z-3'$ также обозначают как область Z, фланкирующую последовательность Z, 3'-фланкирующую область Z или 3'-фланкирующий сегмент. В некоторых вариантах осуществления область пропуска Y формулы $5'-X-Y-Z-3'$ также обозначают как область Y, сегмент Y или сегмент пропуска Y. В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеозид в области пропуска Y является 2'-дезоксирибонуклеозидом, и ни 5'-фланкирующая область X, ни 3'-фланкирующая область Z не содержит какие-либо 2'-дезоксирибонуклеозиды.

[0002] В некоторых вариантах осуществления область Y представляет собой смежный фрагмент нуклеотидов, например, область 6 или более нуклеотидов ДНК, способный рекрутировать РНКазу, такую как РНКазу H. В некоторых вариантах осуществления гэпмер связывается с целевой нуклеиновой кислотой, где рекрутируется РНКазу, а затем может расщеплять целевую нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления область Y фланкирована по 5' и 3' областями X и Z, содержащими высокоаффинные модифицированные нуклеозиды, например, от одного до шести высокоаффинных модифицированных нуклеозидов. Неограничивающие примеры высокоаффинных модифицированных нуклеозидов включают 2'-модифицированные нуклеозиды (например, 2'-МОЕ, 2'-О-Ме, 2'-F) или 2'-4'-бициклические нуклеозиды (например, ЗНК, сEt, ENA). В некоторых вариантах осуществления фланкирующие последовательности X и Z могут иметь длину 1-20 нуклеотидов, 1-8 нуклеотидов или 1-5 нуклеотидов. Фланкирующие последовательности X и Z могут иметь схожую длину или разные длины. В некоторых вариантах осуществления сегмент пропуска Y может являться нуклеотидной последовательностью длиной 5-20 нуклеотидов, 5-15 нуклеотидов или 6-10 нуклеотидов.

[0003] В некоторых вариантах осуществления область пропуска гѣпмерных олигонуклеотидов может содержать модифицированные нуклеотиды, как известно, подходящие для эффективного действия РНКазы Н, в дополнение к нуклеотидам ДНК, таким как С4'-замещенные нуклеотиды, ациклические нуклеотиды и арабино-сконфигурированные нуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления область пропуска содержит одну или более немодифицированных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления одна или обе фланкирующие области независимо содержат одну или более фосфотиоатных межнуклеозидных связей (например, фосфотиоатных межнуклеозидных связей или других связей) между по меньшей мере двумя, по меньшей мере тремя, по меньшей мере четырьмя, по меньшей мере пятью или более нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления каждая из области пропуска и двух фланкирующих областей независимо содержит модифицированные межнуклеозидные связи (например, фосфотиоатные межнуклеозидные связи или другие связи) между по меньшей мере двумя, по меньшей мере тремя, по меньшей мере четырьмя, по меньшей мере пятью или более нуклеотидами.

[0004] Гѣпмер можно получать подходящими способами. Типичные патенты США, патентные публикации США и публикации РСТ, в которых описано получение гѣпмеров, включают, в качестве неограничивающих примеров, патенты США №№ 5013830; 5149797; 5220007; 5256775; 5366878; 5403711; 5491133; 5565350; 5623065; 5652355; 5652356; 5700922; 5898031; 7015315; 7101993; 7399845; 7432250; 7569686; 7683036; 7750131; 8580756; 9045754; 9428534; 9695418; 10017764; 10260069; 9428534; 8580756; патентные публикации США №№ US20050074801, US20090221685; US20090286969, US20100197762 и US20110112170; публикации РСТ №№ WO2004069991; WO2005023825; WO2008049085 и WO2009090182; и патент EP № EP2149605, каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

[0005] В некоторых вариантах осуществления гѣпмер имеет длину 10-40 нуклеозидов. Например, гѣпмер может иметь длину 10-40, 10-35, 10-30, 10-25, 10-20, 10-15, 15-40, 15-35, 15-30, 15-25, 15-20, 20-40, 20-35, 20-30, 20-25, 25-40, 25-35, 25-30, 30-40, 30-35 или 35-40 нуклеозидов. В некоторых вариантах осуществления гѣпмер имеет длину 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40 нуклеозидов.

[0006] В некоторых вариантах осуществления область пропуска Y в гѣпмере имеет длину 5-20 нуклеозидов. Например, область пропуска Y может иметь длину 5-20, 5-15, 5-10, 10-20, 10-15 или 15-20 нуклеозидов. В некоторых вариантах осуществления область пропуска Y имеет длину 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 нуклеозидов. В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеозид в области пропуска Y является 2'-дезоксирибонуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления все нуклеозиды в области пропуска Y являются 2'-дезоксирибонуклеозидами. В некоторых вариантах осуществления один или более нуклеозидов в области пропуска Y являются модифицированным нуклеозидом (например, 2'-модифицированным

нуклеозидом, таким как представленные в настоящем описании). В некоторых вариантах осуществления один или более цитозинов в области пропуска Y, необязательно, являются 5-метил-цитозинами. В некоторых вариантах осуществления каждый цитозин в области пропуска Y является 5-метил-цитозином.

[0007] В некоторых вариантах осуществления 5'-фланкирующая область гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') и 3'-фланкирующая область гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') независимо имеют длину 1-20 нуклеозидов. Например, 5'-фланкирующая область гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') и 3'-фланкирующая область гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') независимо может иметь длину 1-20, 1-15, 1-10, 1-7, 1-5, 1-3, 1-2, 2-5, 2-7, 3-5, 3-7, 5-20, 5-15, 5-10, 10-20, 10-15 или 15-20 нуклеозидов. В некоторых вариантах осуществления 5'-фланкирующая область гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') и 3'-фланкирующая область гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') независимо имеют длину 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 нуклеозидов. В некоторых вариантах осуществления 5'-фланкирующая область гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') и 3'-фланкирующая область гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') имеют одинаковую длину. В некоторых вариантах осуществления 5'-фланкирующая область гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') и 3'-фланкирующая область гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') имеют разную длину. В некоторых вариантах осуществления 5'-фланкирующая область гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') длиннее 3'-фланкирующей области гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3'). В некоторых вариантах осуществления 5'-фланкирующая область гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') короче 3'-фланкирующей области гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3').

[0008] В некоторых вариантах осуществления гэнмер содержит 5'-X-Y-Z-3' 5-10-5, 4-12-4, 3-14-3, 2-16-2, 1-18-1, 3-10-3, 2-10-2, 1-10-1, 2-8-2, 4-6-4, 3-6-3, 2-6-2, 4-7-4, 3-7-3, 2-7-2, 4-8-4, 3-8-3, 2-8-2, 1-8-1, 2-9-2, 1-9-1, 2-10-2, 1-10-1, 1-12-1, 1-16-1, 2-15-1, 1-15-2, 1-14-3, 3-14-1, 2-14-2, 1-13-4, 4-13-1, 2-13-3, 3-13-2, 1-12-5, 5-12-1, 2-12-4, 4-12-2, 3-12-3, 1-11-6, 6-11-1, 2-11-5, 5-11-2, 3-11-4, 4-11-3, 1-17-1, 2-16-1, 1-16-2, 1-15-3, 3-15-1, 2-15-2, 1-14-4, 4-14-1, 2-14-3, 3-14-2, 1-13-5, 5-13-1, 2-13-4, 4-13-2, 3-13-3, 1-12-6, 6-12-1, 2-12-5, 5-12-2, 3-12-4, 4-12-3, 1-11-7, 7-11-1, 2-11-6, 6-11-2, 3-11-5, 5-11-3, 4-11-4, 1-18-1, 1-17-2, 2-17-1, 1-16-3, 1-16-3, 2-16-2, 1-15-4, 4-15-1, 2-15-3, 3-15-2, 1-14-5, 5-14-1, 2-14-4, 4-14-2, 3-14-3, 1-13-6, 6-13-1, 2-13-5, 5-13-2, 3-13-4, 4-13-3, 1-12-7, 7-12-1, 2-12-6, 6-12-2, 3-12-5, 5-12-3, 1-11-8, 8-11-1, 2-11-7, 7-11-2, 3-11-6, 6-11-3, 4-11-5, 5-11-4, 1-18-1, 1-17-2, 2-17-1, 1-16-3, 3-16-1, 2-16-2, 1-15-4, 4-15-1, 2-15-3, 3-15-2, 1-14-5, 2-14-4, 4-14-2, 3-14-3, 1-13-6, 6-13-1, 2-13-5, 5-13-2, 3-13-4, 4-13-3, 1-12-7, 7-12-1, 2-12-6, 6-12-2, 3-12-5, 5-12-3, 1-11-8, 8-11-1, 2-11-7, 7-11-2, 3-11-6, 6-11-3, 4-11-5, 5-11-4, 1-19-1, 1-18-2, 2-18-1, 1-17-3, 3-17-1, 2-17-2, 1-16-4, 4-16-1, 2-16-3, 3-16-2, 1-15-5, 2-15-4, 4-15-2, 3-15-3, 1-14-6, 6-14-1, 2-14-5, 5-14-2, 3-14-4, 4-14-3, 1-13-7, 7-13-1, 2-13-6, 6-13-2, 3-13-5, 5-13-3, 4-13-4, 1-12-8, 8-12-1, 2-12-7, 7-12-2, 3-12-6, 6-12-3, 4-12-5, 5-12-4, 2-11-8, 8-11-2, 3-11-7, 7-11-3, 4-11-6, 6-11-4, 5-11-5, 1-20-1, 1-19-2, 2-19-1, 1-18-3, 3-18-1, 2-18-2, 1-17-4, 4-17-1, 2-17-3, 3-17-2, 1-16-5, 2-16-4, 4-16-2, 3-16-3, 1-15-6, 6-15-1, 2-15-5, 5-15-2, 3-15-4, 4-15-3, 1-14-7, 7-14-1, 2-14-6, 6-14-2, 3-14-5, 5-14-3, 4-14-4, 1-13-8, 8-13-1, 2-13-7, 7-13-2, 3-13-6, 6-13-3, 4-13-5, 5-13-4, 2-

12-8, 8-12-2, 3-12-7, 7-12-3, 4-12-6, 6-12-4, 5-12-5, 3-11-8, 8-11-3, 4-11-7, 7-11-4, 5-11-6, 6-11-5, 1-21-1, 1-20-2, 2-20-1, 1-20-3, 3-19-1, 2-19-2, 1-18-4, 4-18-1, 2-18-3, 3-18-2, 1-17-5, 2-17-4, 4-17-2, 3-17-3, 1-16-6, 6-16-1, 2-16-5, 5-16-2, 3-16-4, 4-16-3, 1-15-7, 7-15-1, 2-15-6, 6-15-2, 3-15-5, 5-15-3, 4-15-4, 1-14-8, 8-14-1, 2-14-7, 7-14-2, 3-14-6, 6-14-3, 4-14-5, 5-14-4, 2-13-8, 8-13-2, 3-13-7, 7-13-3, 4-13-6, 6-13-4, 5-13-5, 1-12-10, 10-12-1, 2-12-9, 9-12-2, 3-12-8, 8-12-3, 4-12-7, 7-12-4, 5-12-6, 6-12-5, 4-11-8, 8-11-4, 5-11-7, 7-11-5, 6-11-6, 1-22-1, 1-21-2, 2-21-1, 1-21-3, 3-20-1, 2-20-2, 1-19-4, 4-19-1, 2-19-3, 3-19-2, 1-18-5, 2-18-4, 4-18-2, 3-18-3, 1-17-6, 6-17-1, 2-17-5, 5-17-2, 3-17-4, 4-17-3, 1-16-7, 7-16-1, 2-16-6, 6-16-2, 3-16-5, 5-16-3, 4-16-4, 1-15-8, 8-15-1, 2-15-7, 7-15-2, 3-15-6, 6-15-3, 4-15-5, 5-15-4, 2-14-8, 8-14-2, 3-14-7, 7-14-3, 4-14-6, 6-14-4, 5-14-5, 3-13-8, 8-13-3, 4-13-7, 7-13-4, 5-13-6, 6-13-5, 4-12-8, 8-12-4, 5-12-7, 7-12-5, 6-12-6, 5-11-8, 8-11-5, 6-11-7 или 7-11-6. Числами указано количество нуклеозидов в областях X, Y и Z в гэнмере 5'-X-Y-Z-3'.

[0009] В некоторых вариантах осуществления один или более нуклеозидов в 5'-фланкирующей области гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') или 3'-фланкирующей области гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') являются модифицированными нуклеотидами (например, высокоаффинными модифицированными нуклеотидами). В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеозид (например, высокоаффинные модифицированные нуклеозиды) является 2'-модифицированным нуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления 2'-модифицированный нуклеозид является 2'-4'-бициклическим нуклеозидом или небициклическим 2'-модифицированным нуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления высокоаффинный модифицированный нуклеозид является 2'-4'-бициклическим нуклеозидом (например, ЗНК, сEt или ENA) или небициклическим 2'-модифицированным нуклеозидом (например, 2'-фтор (2'-F), 2'-О-метил (2'-O-Me), 2'-О-метоксиэтил (2'-MOE), 2'-О-аминопропил (2'-O-AP), 2'-О-диметиламиноэтил (2'-O-DMAOE), 2'-О-диметиламинопропил (2'-O-DMAP), 2'-О-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-O-DMAEOE), или 2'-О-N-метилацетидами (2'-O-NMA) нуклеозидом).

[00010] В некоторых вариантах осуществления один или более нуклеозидов в 5'-фланкирующей области гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') являются высокоаффинными модифицированными нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеозид в 5'-фланкирующей области гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') является высокоаффинным модифицированным нуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления один или более нуклеозидов в 3'-фланкирующей области гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') являются высокоаффинными модифицированными нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеозид 3'-фланкирующей области гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') является высокоаффинным модифицированным нуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления один или более нуклеозидов в 5'-фланкирующей области гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') являются высокоаффинными модифицированными нуклеотидами, и один или более нуклеозидов в 3'-фланкирующей области гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') являются высокоаффинными

модифицированными нуклеозидами. В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеозид в 5'-фланкирующей области гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') является высокоаффинным модифицированным нуклеозидом, и каждый нуклеозид в 3'-фланкирующей области гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') является высокоаффинным модифицированным нуклеозидом.

[00011] В некоторых вариантах осуществления 5'-фланкирующая область гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') содержит те же высокоаффинные нуклеозиды, что и 3'-фланкирующая область гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3'). Например, 5'-фланкирующая область гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') и 3'-фланкирующая область гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') могут содержать один или более небциклических 2'-модифицированных нуклеозидов (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме). В другом примере 5'-фланкирующая область гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') и 3'-фланкирующая область гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') могут содержать один или более 2'-4'-бициклических нуклеозидов (например, ЗНК или сEt). В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеозид в 5'-фланкирующей области гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') и 3'-фланкирующей области гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') является небциклическим 2'-модифицированным нуклеозидом (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме). В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеозид в 5'-фланкирующей области гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') и 3'-фланкирующей области гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') является 2'-4'-бициклическим нуклеозидом (например, ЗНК или сEt).

[00012] В некоторых вариантах осуществления гэнмер содержит конфигурацию 5'-X-Y-Z-3', где X и Z независимо имеют длину 1-7 (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) нуклеозидов, и Y имеет длину 6-10 (например, 6, 7, 8, 9 или 10) нуклеозидов, где каждый нуклеозид в X и Z является небциклическим 2'-модифицированным нуклеозидом (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме), и каждый нуклеозид в Y является 2'-дезоксирибонуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления гэнмер содержит конфигурацию 5'-X-Y-Z-3', где X и Z независимо имеют длину 1-7 (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) нуклеозидов, и Y имеет длину 6-10 (например, 6, 7, 8, 9 или 10) нуклеозидов, где каждый нуклеозид в X и Z является 2'-4'-бициклическим нуклеозидом (например, ЗНК или сEt), и каждый нуклеозид в Y является 2'-дезоксирибонуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления 5'-фланкирующая область гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') содержит иные высокоаффинные нуклеозиды, чем 3'-фланкирующая область гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3'). Например, 5'-фланкирующая область гэнмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') может содержать один или более небциклических 2'-модифицированных нуклеозидов (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме), и 3'-фланкирующая область гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') может содержать один или более 2'-4'-бициклических нуклеозидов (например, ЗНК или сEt). В другом примере 3'-фланкирующая область гэнмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') может содержать один или более небциклических 2'-модифицированных нуклеозидов (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме), и 5'-фланкирующая

область гэтамера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') может содержать один или более 2'-4'-бициклических нуклеозидов (например, ЗНК или сEt).

[00013] В некоторых вариантах осуществления гэтамер содержит конфигурацию 5'-X-Y-Z-3', где X и Z независимо имеют длину 1-7 (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) нуклеозидов, и Y имеет длину 6-10 (например, 6, 7, 8, 9 или 10) нуклеозидов, где каждый нуклеозид в X является небициклическим 2'-модифицированным нуклеозидом (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме), каждый нуклеозид в Z является 2'-4'-бициклическим нуклеозидом (например, ЗНК или сEt), и каждый нуклеозид в Y является 2'-дезоксирибонуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления гэтамер содержит конфигурацию 5'-X-Y-Z-3', где X и Z независимо имеют длину 1-7 (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) нуклеозидов, и Y имеет длину 6-10 (например, 6, 7, 8, 9 или 10) нуклеозидов, где каждый нуклеозид в X является 2'-4'-бициклическим нуклеозидом (например, ЗНК или сEt), каждый нуклеозид в Z является небициклическим 2'-модифицированным нуклеозидом (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме), и каждый нуклеозид в Y является 2'-дезоксирибонуклеозидом.

[00014] В некоторых вариантах осуществления 5'-фланкирующая область гэтамера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') содержит один или более небициклических 2'-модифицированных нуклеозидов (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме) и один или более 2'-4'-бициклических нуклеозидов (например, ЗНК или сEt). В некоторых вариантах осуществления 3'-фланкирующая область гэтамера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') содержит один или более небициклических 2'-модифицированных нуклеозидов (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме) и один или более 2'-4'-бициклических нуклеозидов (например, ЗНК или сEt). В некоторых вариантах осуществления 5'-фланкирующая область гэтамера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') и 3'-фланкирующая область гэтамера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') содержат один или более небициклических 2'-модифицированных нуклеозидов (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме) и один или более 2'-4'-бициклических нуклеозидов (например, ЗНК или сEt).

[00015] В некоторых вариантах осуществления гэтамер содержит конфигурацию 5'-X-Y-Z-3', где X и Z независимо имеют длину 2-7 (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) нуклеозидов, и Y имеет длину 6-10 (например, 6, 7, 8, 9 или 10) нуклеозидов, где по меньшей мере одно, но не все, (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6) из положений 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 в X (самым близким к 5' положением является положение 1) является небициклическим 2'-модифицированным нуклеозидом (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме), где остальные нуклеозиды в X и Z являются 2'-4'-бициклическими нуклеозидами (например, ЗНК или сEt), и где каждый нуклеозид в Y является 2'-дезоксирибонуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления гэтамер содержит конфигурацию 5'-X-Y-Z-3', где X и Z независимо имеют длину 2-7 (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) нуклеозидов, и Y имеет длину 6-10 (например, 6, 7, 8, 9, или 10) нуклеозидов, где по меньшей мере одно, но не все, (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6) из положений 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 в Z (самым близким к 5' положением является положение 1) является небициклическим 2'-модифицированным нуклеозидом (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме),

где остальные нуклеозиды в X и Z являются 2'-4'-бициклическими нуклеозидами (например, ЗНК или сEt), и где каждый нуклеозид в Y является 2'-дезоксирибонуклеозидом. В некоторых вариантах осуществления гэпмер содержит конфигурацию 5'-X-Y-Z-3', где X и Z независимо имеют длину 2-7 (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7) нуклеозидов, и Y имеет длину 6-10 (например, 6, 7, 8, 9 или 10) нуклеозидов, где по меньшей мере одно, но не все, (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6) из положений 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 в X и по меньшей мере одно из положений, но не все, (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6) из положений 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 в Z (самым близким к 5' положением является положение 1) является небициклическим 2'-модифицированным нуклеозидом (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме), где остальные нуклеозиды в X и Z являются 2'-4'-бициклическими нуклеозидами (например, ЗНК или сEt), и где каждый нуклеозид в Y является 2'-дезоксирибонуклеозидом.

[00016] Неограничивающие примеры конфигураций гэпмеров со смесью небициклического 2'-модифицированного нуклеозида (например, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме) и 2'-4'-бициклических нуклеозидов (например, ЗНК или сEt) в 5'-фланкирующей области гэпмера (X в формуле 5'-X-Y-Z-3') и/или 3'-фланкирующей области гэпмера (Z в формуле 5'-X-Y-Z-3') включают: BBB-(D)n-BBBAА; KKK-(D)n-KKKAA; LLL-(D)n-LLLAA; BBB-(D)n-BBBEE; KKK-(D)n-KKKEE; LLL-(D)n-LLLEE; BBB-(D)n-BBBAА; KKK-(D)n-KKKAA; LLL-(D)n-LLLAA; BBB-(D)n-BBBEE; KKK-(D)n-KKKEE; LLL-(D)n-LLLEE; BBB-(D)n-BBBAАА; KKK-(D)n-KKKAAA; LLL-(D)n-LLLAAA; BBB-(D)n-BBBEEE; KKK-(D)n-KKKEEE; LLL-(D)n-LLLEEE; BBB-(D)n-BBBAАА; KKK-(D)n-KKKAAA; LLL-(D)n-LLLAAA; BBB-(D)n-BBBEEE; KKK-(D)n-KKKEEE; LLL-(D)n-LLLEEE; BABA-(D)n-ABAB; KAKA-(D)n-AKAK; LALA-(D)n-ALAL; BEBE-(D)n-EBEB; KEKE-(D)n-EKEK; LELE-(D)n-ELEL; BABA-(D)n-ABAB; KAKA-(D)n-AKAK; LALA-(D)n-ALAL; BEBE-(D)n-EBEB; KEKE-(D)n-EKEK; LELE-(D)n-ELEL; ABAB-(D)n-ABAB; AKAK-(D)n-AKAK; ALAL-(D)n-ALAL; EBEB-(D)n-EBEB; EKEK-(D)n-EKEK; ELEL-(D)n-ELEL; ABAB-(D)n-ABAB; AKAK-(D)n-AKAK; ALAL-(D)n-ALAL; EBEB-(D)n-EBEB; EKEK-(D)n-EKEK; ELEL-(D)n-ELEL; AABB-(D)n-BBAA; BBAA-(D)n-AABB; AAKK-(D)n-KKAA; AALL-(D)n-LLAA; EEBB-(D)n-BBEE; EEKK-(D)n-KKKE; EELL-(D)n-LLEE; AABB-(D)n-BBAA; AAKK-(D)n-KKAA; AALL-(D)n-LLAA; EEBB-(D)n-BBEE; EEKK-(D)n-KKKE; EELL-(D)n-LLEE; BBB-(D)n-BBA; KKK-(D)n-KKA; LLL-(D)n-LLA; BBB-(D)n-BBE; KKK-(D)n-KKE; LLL-(D)n-LLE; BBB-(D)n-BBA; KKK-(D)n-KKA; LLL-(D)n-LLA; BBB-(D)n-BBE; KKK-(D)n-KKE; LLL-(D)n-LLE; BBB-(D)n-BBA; KKK-(D)n-KKA; LLL-(D)n-LLA; BBB-(D)n-BBE; KKK-(D)n-KKE; LLL-(D)n-LLE; ABBB-(D)n-BBBA; AKKK-(D)n-KKKA; ALLL-(D)n-LLLA; EBBB-(D)n-BBBE; EKKK-(D)n-KKKE; ELLL-(D)n-LLLE; ABBB-(D)n-BBBA; AKKK-(D)n-KKKA; ALLL-(D)n-LLLA; EBBB-(D)n-BBBE; EKKK-(D)n-KKKE; ELLL-(D)n-LLLE; ABBB-(D)n-BBBA; AKKK-(D)n-KKKA; ALLL-(D)n-LLLA; EBBB-(D)n-BBBE; EKKK-(D)n-KKKE; ELLL-(D)n-LLLE; ABBB-(D)n-BBBA; AKKK-(D)n-KKKA; ALLL-(D)n-LLLA; EBBB-(D)n-BBBE; EKKK-(D)n-KKKE; ELLL-(D)n-LLLE; ABBBB-(D)n-BBB; AAKKK-(D)n-KKK; AALLL-(D)n-LLL; EBBBB-(D)n-BBB;

EEKKK-(D)_n-KKK; EELL-(D)_n-LLL; AABBB-(D)_n-BBB; AAKKK-(D)_n-KKK; AALL-(D)_n-LLL; EEBBB-(D)_n-BBB; EEKKK-(D)_n-KKK; EELL-(D)_n-LLL; AABBB-(D)_n-BBBA; AAKKK-(D)_n-KKKA; AALL-(D)_n-LLLA; EEBBB-(D)_n-BBBE; EEKKK-(D)_n-KKKE; EELL-(D)_n-LLE; AABBB-(D)_n-BBBA; AAKKK-(D)_n-KKKA; AALL-(D)_n-LLLA; EEBBB-(D)_n-BBBE; EEKKK-(D)_n-KKKE; EELL-(D)_n-LLE; ABBAABB-(D)_n-BB; AKKAAKK-(D)_n-KK; ALLAALL-(D)_n-LL; EBEEBB-(D)_n-BB; EKKEEK-(D)_n-KK; ELLELL-(D)_n-LL; ABBAABB-(D)_n-BB; AKKAAKK-(D)_n-KK; ALLAALL-(D)_n-LL; EBEEBB-(D)_n-BB; EKKEEK-(D)_n-KK; ELLELL-(D)_n-LL; ABBABB-(D)_n-BBB; AKKAKK-(D)_n-KKK; ALLALL-(D)_n-LLL; EBEBB-(D)_n-BBB; EKKEEK-(D)_n-KKK; ELLELL-(D)_n-LLL; ABBABB-(D)_n-BBB; AKKAKK-(D)_n-KKK; ALLALL-(D)_n-LLL; EBEBB-(D)_n-BBB; EKKEEK-(D)_n-KKK; ELLELL-(D)_n-LLL; EEEK-(D)_n-EEEEEEEE; EEK-(D)_n-EEEEEEEE; EK-(D)_n-EEEEEEEE; EK-(D)_n-EEEKK; K-(D)_n-EEEKEKE; K-(D)_n-EEEKEKEE; K-(D)_n-EEKEK; EK-(D)_n-EEEEKEKE; EK-(D)_n-EEKEK; EEK-(D)_n-KEEKE; EK-(D)_n-EEKEK; EK-(D)_n-KEEK; EEK-(D)_n-EEKEK; EK-(D)_n-KEEKEE; EK-(D)_n-EEKEKE; EK-(D)_n-EEKEKE; и EK-(D)_n-EEEEKEK;. "A" нуклеозиды содержат 2'-модифицированный нуклеозид; "B" представляет собой 2'-4'-бициклический нуклеозид; "K" представляет собой нуклеозид с затрудненным этилом (сEt); "L" представляет собой нуклеозид ЗНК; и "E" представляет собой 2'-МОЕ-модифицированный рибонуклеозид; "D" представляет собой 2'-дезоксирибонуклеозид; "n" представляет собой длину сегмента пропуска (Y в конфигурации 5'-X-Y-Z-3') и является целым числом 1-20.

[00017] В некоторых вариантах осуществления любой из гэпмеров, представленных в настоящем описании, содержит одну или более модифицированных нуклеозидных связей (например, фосфотиоатную связь) в каждой из областей X, Y и Z. В некоторых вариантах осуществления каждая межнуклеозидная связь в любом из гэпмеров, представленных в настоящем описании, является фосфотиоатной связью. В некоторых вариантах осуществления каждая из областей X, Y и Z независимо содержит смесь фосфотиоатных связей и фосфодиэфирных связей. В некоторых вариантах осуществления каждая межнуклеозидная связь в области пропуска Y является фосфотиоатной связью, 5'-фланкирующая область X содержит смесь фосфотиоатных связей и фосфодиэфирных связей, и 3'-фланкирующая область Z содержит смесь фосфотиоатных связей и фосфодиэфирных связей.

i. Миксмеры

[000434] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид, представленный в настоящем описании, может являться миксмером или содержать паттерн последовательности миксмера. В основном, миксмеры являются олигонуклеотидами, содержащими природные и неприродные нуклеозиды, или содержат два разных типа неприродных нуклеозидов, как правило, в чередующемся паттерне. Миксмеры, как правило, имеют более высокую аффинность связывания, чем немодифицированные олигонуклеотиды, и их можно использовать для специфического связывания молекулы-мишени, например, для блокирования участка связывания на молекуле-мишени. В

основном, миксмеры не рекрутируют РНКазу к молекуле-мишени и, таким образом, не способствуют расщеплению молекулы-мишени. Такие олигонуклеотиды, неспособные рекрутировать РНКазу Н, описаны, например, см. WO2007/112754 или WO2007/112753.

[000435] В некоторых вариантах осуществления миксмер содержит или состоит из повторяющегося паттерна аналогов нуклеозидов и природных нуклеозидов или одного типа аналога нуклеозида и второго типа аналога нуклеозида. Однако миксмер может не содержать повторяющийся паттерн и, вместо этого, может содержать любой порядок модифицированных нуклеозидов и природных нуклеозидов или любой порядок одного типа модифицированного нуклеозида и второго типа модифицированного нуклеозида. Повторяющийся паттерн, например, может представлять собой паттерн, в котором каждый второй или каждый третий нуклеозид является модифицированным нуклеозидом, таким как ЗНК, и остальные нуклеозиды являются природными нуклеозидами, такими как ДНК, или являются 2'-замещенным аналогом нуклеозида, таким как 2'-МОЕ или 2'-фтора-аналоги, или любым другим модифицированным нуклеозидом, представленным в настоящем описании. Установлено, что повторяющийся паттерн модифицированного нуклеозида, такой как единицы ЗНК, можно комбинировать с модифицированным нуклеозидом в фиксированных положениях, например, на 5'- или 3'-концах.

[000436] В некоторых вариантах осуществления миксмер не содержит область из более чем 5, более чем 4, более чем 3 или более чем 2 последовательных природных нуклеотидов, таких как нуклеотиды ДНК. В некоторых вариантах осуществления миксмер содержит по меньшей мере область, состоящую из по меньшей мере двух последовательных модифицированных нуклеозидов, таких как по меньшей мере две последовательных ЗНК. В некоторых вариантах осуществления миксмер содержит по меньшей мере область, состоящую из по меньшей мере трех последовательных модифицированных нуклеозидов, таких как по меньшей мере три последовательных ЗНК.

[000437] В некоторых вариантах осуществления миксмер не содержит область из более чем 7, более чем 6, более чем 5, более чем 4, более чем 3 или более чем 2 последовательных аналогов нуклеозидов, таких как ЗНК. В некоторых вариантах осуществления единицы ЗНК можно заменять другими аналогами нуклеозидов, такими как представленные в настоящем описании.

[000438] Миксмеры можно конструировать так, чтобы они содержали смесь повышающих аффинность модифицированных нуклеозидов, таких как, в неограничивающих примерах, нуклеотиды ЗНК и 2'-О-МЕ-нуклеозиды. В некоторых вариантах осуществления миксмер содержит модифицированные межнуклеозидные связи (например, фосфотиоатные межнуклеозидные связи или другие связи) между по меньшей мере двумя, по меньшей мере тремя, по меньшей мере четырьмя, по меньшей мере пятью или более нуклеозидами.

[000439] Миксмер можно получать любым подходящим способом. Типичные патенты США, патентные публикации США и публикации РСТ, в которых описано

получение миксмеров, включают патентные публикации США №№ 2006/0128646, 2009/0209748, 2009/0298916, 2011/0077288 и 2012/0322851 и патенте США № 7687617.

[000440] В некоторых вариантах осуществления миксмер содержит один или более морфолиновых нуклеозидов. Например, в некоторых вариантах осуществления миксмер может содержать морфолиновые нуклеозиды, смешанные (например, чередующимся образом) с одним или более другими нуклеозидами (например, нуклеотидами ДНК, РНК) или модифицированными нуклеозидами (например, ЗНК, 2'-О-МЕ-нуклеозидами).

[000441] В некоторых вариантах осуществления миксмеры можно использовать для коррекции сплайсинга или пропуска экзонов, например, как описано в Touznik A., et al., "LNA/DNA mixmer-based antisense oligonucleotides correct alternative splicing of the SMN2 gene and restore SMN protein expression in type 1 SMA fibroblasts", Scientific Reports, volume 7, Article number: 3672 (2017), Chen S. et al., Synthesis of a Morpholino Nucleic Acid (MNA)-Uridine Phosphoramidite, and Exon Skipping Using MNA/2'-O-Methyl Mixmer Antisense Oligonucleotide, Molecules 2016, 21, 1582, содержание каждой из которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

j. РНК-интерференция (РНКи)

[000442] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотиды, представленные в настоящем описании, могут находиться в форме малых интерферирующих РНК (миРНК), также известных как короткие интерферирующие РНК или РНК сайленсинга. миРНК представляют собой класс двухцепочечных молекул РНК, как правило, длиной приблизительно 20-25 пар оснований, нацеленных на нуклеиновые кислоты (например, мРНК) для деградации посредством РНК-интерференции (РНКи) в клетках. Специфичность молекул миРНК можно определять посредством связывания антисмысловой цепи молекулы с ее РНК-мишенью. Эффективные молекулы миРНК, как правило, имеют длину менее 30-35 пар оснований для предотвращения запуска неспецифических путей РНК-интерференции в клетке через интерфероновый ответ, хотя более длинная миРНК также может быть эффективной. В некоторых вариантах осуществления молекулы миРНК имеют длину 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50 или более пар оснований. В некоторых вариантах осуществления молекулы миРНК имеют длину от 8 до 30 пар оснований, от 10 до 15 пар оснований, от 10 до 20 пар оснований, от 15 до 25 пар оснований, от 19 до 21 пар оснований, от 21 до 23 пар оснований.

[000443] После выбора подходящей последовательности РНК-мишени можно конструировать молекулы миРНК, содержащие нуклеотидную последовательность, комплементарную всей последовательности-мишени или ее частью, т.е. антисмысловую последовательность, и получать их соответствующими способами (см., например, публикацию РСТ № WO 2004/016735 и патентные публикации США №№ 2004/0077574 и 2008/0081791). Молекула миРНК может являться двухцепочечной (т.е. молекулой дцРНК, содержащей антисмысловую цепь и комплементарную смысловую цепь, гибридизирующиеся с образованием дцРНК) или одноцепочечной (т.е. молекулой ssRNA,

содержащей только антисмысловую цепь). Молекулы миРНК могут содержать дуплекс, асимметричный дуплекс, шпилечную или асимметричную шпилечную вторичную структуру, имеющую самокомплементарные смысловые и антисмысловые цепи.

[000444] В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь молекулы миРНК имеет длину 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50 или более нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь имеет длину от 8 до 50 нуклеотидов, от 8 до 40 нуклеотидов, от 8 до 30 нуклеотидов, от 10 до 15 нуклеотидов, от 10 до 20 нуклеотидов, от 15 до 25 нуклеотидов, от 19 до 21 нуклеотидов, от 21 до 23 нуклеотидов.

[000445] В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь молекулы миРНК имеет длину 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50 или более нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь имеет длину от 8 до 50 нуклеотидов, от 8 до 40 нуклеотидов, от 8 до 30 нуклеотидов, от 10 до 15 нуклеотидов, от 10 до 20 нуклеотидов, от 15 до 25 нуклеотидов, от 19 до 21 нуклеотидов, от 21 до 23 нуклеотидов.

[000446] В некоторых вариантах осуществления молекулы миРНК содержат антисмысловую цепь, содержащую область комплементарности целевой области в мРНК-мишени. В некоторых вариантах осуществления область комплементарности является на по меньшей мере 80%, по меньшей мере, 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% комплементарной целевой области в мРНК-мишени. В некоторых вариантах осуществления целевая область является областью последовательных нуклеотидов в мРНК-мишени. В некоторых вариантах осуществления комплементарная нуклеотидная последовательность может не являться на 100% комплементарной последовательности своей мишени, чтобы специфически гибридизоваться или являться специфической для целевой последовательности РНК.

[000447] В некоторых вариантах осуществления молекулы миРНК содержат антисмысловую цепь, содержащую область комплементарности целевой последовательности РНК, и область комплементарности имеет длину в диапазоне от 8 до 15, от 8 до 30, от 8 до 40, или от 10 до 50, или от 5 до 50, или от 5 до 40 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления область комплементарности имеет длину 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления область комплементарности является комплементарной в отношении по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19, по меньшей мере 20, по меньшей мере 21, по меньшей мере 22, по меньшей мере 23, по меньшей мере 24, по меньшей мере 25 или

более последовательных нуклеотидов целевой последовательности РНК. В некоторых вариантах осуществления молекулы миРНК содержат нуклеотидную последовательность, содержащую не более 1, 2, 3, 4 или 5 ошибочно спаренных оснований по сравнению с частью последовательных нуклеотидов целевой последовательности РНК. В некоторых вариантах осуществления молекулы миРНК содержат нуклеотидную последовательность, содержащую до 3 ошибочно спаренных оснований на 15 оснований или до 2 ошибочно спаренных оснований на 10 оснований.

[000448] В некоторых вариантах осуществления молекулы миРНК содержат антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, являющуюся комплементарной (например, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или 100%) целевой последовательности РНК олигонуклеотидов, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления молекулы миРНК содержат антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, являющуюся на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или 100% идентичной олигонуклеотидам, представленным в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления молекулы миРНК содержат антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19, по меньшей мере 20, по меньшей мере 21, по меньшей мере 22, по меньшей мере 23, по меньшей мере 24, по меньшей мере 25 или более последовательных нуклеотидов из олигонуклеотидов, представленных в настоящем описании.

[000449] Двухцепочечная миРНК может содержать смысловую и антисмысловую цепи РНК, имеющие одинаковую или разную длину. Двухцепочечные молекулы миРНК также могут собираться из одного олигонуклеотида в структуре стебель-петля, где самокомплементарные смысловые и антисмысловые области молекулы миРНК соединены линкерами на основе нуклеиновой кислоты или не на основе нуклеиновой кислоты, а также кольцевой одноцепочечной РНК, имеющей две или более петлевые структуры и стебель, содержащий самокомплементарные смысловые и антисмысловые цепи, где кольцевая РНК может процессироваться *in vivo* или *in vitro* с образованием активной молекулы миРНК, способной опосредовать РНКи. Таким образом, Молекулы малой шпилечной РНК (shRNA) также включены в настоящее изобретение. Эти молекулы содержат специфическую антисмысловую последовательность в дополнение к обратной комплементарной (смысловой) последовательности, как правило, отделенной спейсерной или петлевой последовательностью. Расщепление спейсера или петли приводит к образованию одноцепочечной молекулы РНК и ее обратного комплемента, таким образом, что они могут отжигаться с образованием молекулы дцРНК (необязательно, с дополнительными стадиями процессинга, которые могут приводить к добавлению или удалению одного, двух трех или более нуклеотидов с 3'-конца и/или (например, и) 5'-

конца одной или обеих цепей). Спейсер может иметь достаточную длину, чтобы позволить антисмысловым и смысловым последовательностям отжигаться и образовывать двухцепочечную структуру (или стебель) перед расщеплением спейсера (и, необязательно, дальнейшими стадиями процессинга, которые могут приводить к добавлению или удалению одного, двух, трех, четырех или более нуклеотидов с 3'-конца и/или (например, и) 5'-конца одной или обеих цепей). Спейсерная последовательность может являться неродственной нуклеотидной последовательностью, размещенной между двумя комплементарными областями нуклеотидной последовательности, которые при отжиге в двухцепочечную нуклеиновую кислоту содержат shRNA.

[000450] Общая длина молекул миРНК может варьироваться от приблизительно 14 до приблизительно 100 нуклеотидов в зависимости от типа конструируемой молекулы миРНК. Как правило, от приблизительно 14 до приблизительно 50 из этих нуклеотидов являются комплементарными последовательности РНК-мишени, т.е. составляют специфическую антисмысловую последовательность молекулы миРНК. Например, если миРНК является двух- или одноцепочечной миРНК, длина может варьироваться от приблизительно 14 до приблизительно 50 нуклеотидов, в то время как, если миРНК является shRNA или кольцевой молекулой, длина может варьироваться от приблизительно 40 нуклеотидов до приблизительно 100 нуклеотидов.

[000451] Молекула миРНК может содержать 3'-липкий конец на одном конце молекулы. Другой конец может являться тупым концом или липким концом (5' или 3'). Если молекула миРНК содержит липкий конец на обоих концах молекулы, длина липких концов может быть той же или другой. В одном из вариантов осуществления молекула миРНК по настоящему изобретению содержит 3'-липкие концы от приблизительно 1 до приблизительно 3 нуклеотидов на обоих концах молекулы. В некоторых вариантах осуществления миРНК молекула содержит 3'-липкие концы из от приблизительно 1 до приблизительно 3 нуклеотидов на смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления миРНК молекула содержит 3'-липкие концы от приблизительно 1 до приблизительно 3 нуклеотидов на антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления молекула миРНК содержит 3'-липкие концы от приблизительно 1 до приблизительно 3 нуклеотидов на смысловой цепи и антисмысловой цепи.

[000452] В некоторых вариантах осуществления молекула миРНК содержит один или более модифицированных нуклеотидов (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более). В некоторых вариантах осуществления молекула миРНК содержит один или более модифицированных нуклеотидов и/или (например, и) одну или более модифицированных межнуклеотидных связей. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеотид является модифицированным остатком сахара (например, 2'-модифицированным нуклеотидом). В некоторых вариантах осуществления молекула миРНК содержит один или более 2'-модифицированных нуклеотидов, например, 2'-дезоксидезокси, 2'-фтор (2'-F), 2'-О-метил (2'-O-Me), 2'-О-метоксиэтил (2'-MOE), 2'-О-аминопропил (2'-O-AP), 2'-О-диметиламиноэтил (2'-O-DMAOE), 2'-О-

диметиламинопропил (2'-O-DMAP), 2'-O-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-O-DMAEOE) или 2'-O--N-метилацетамидо (2'-O-NMA) нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеотид молекулы миРНК является модифицированным нуклеотидом (например, 2'-модифицированным нуклеотидом). В некоторых вариантах осуществления молекула миРНК содержит один или более фосфодиамидатных морфолинонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеотид молекулы миРНК является фосфодиамидатным морфолинонуклеотидом.

[000453] В некоторых вариантах осуществления молекула миРНК содержит фосфотиоатную или другую модифицированную межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления молекула миРНК содержит фосфотиоатные межнуклеозидные связи. В некоторых вариантах осуществления молекула миРНК содержит фосфотиоатные межнуклеозидные связи между по меньшей мере двумя нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления молекула миРНК содержит фосфотиоатные межнуклеозидные связи между всеми нуклеотидами. Например, в некоторых вариантах осуществления молекула миРНК содержит модифицированные межнуклеотидные связи в первой, второй и/или (например, и) третьей межнуклеозидной связи на 5'- или 3'-конце молекулы миРНК.

[000454] В некоторых вариантах осуществления модифицированные межнуклеотидные связи являются фосфорсодержащими связями. В некоторых вариантах осуществления фосфорсодержащие связи, которые можно использовать, включают, в качестве неограничивающих примеров, фосфотиоаты, хиральные фосфотиоаты, фосфодитиоаты, фосфотриэфиры, аминоалкилфосфотриэфиры, метильные и другие алкильные фосфонаты, содержащий 3'-алкиленфосфонаты и хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфоамидаты, содержащие 3'-аминофосфоамидат и аминоалкилфосфоамидаты, тионофосфоамидат, тионоалкилфосфонаты, тионоалкилфосфотриэфиры и боранофосфаты, имеющие нормальные 3'-5'-связи, их 2'-5'-связанные аналоги и аналоги, имеющие инвертированную полярность, где смежные пары нуклеозидных единиц связаны 3'-5' с 5'-3' или 2'-5' с 5'-2'; см. патенты США №№ 3687808; 4469863; 4476301; 5023243; 5177196; 5188897; 5264423; 5276019; 5278302; 5286717; 5321131; 5399676; 5405939; 5453496; 5455233; 5466677; 5476925; 5519126; 5536821; 5541306; 5550111; 5563253; 5571799; 5587361 и 5625050.

[000455] Любые из модифицированных химических составов или форматов молекул миРНК, представленных в настоящем описании, можно комбинировать друг с другом. Например, в одну молекулу миРНК можно включать один, два, три, четыре, пять или более разных типов модификаций.

[000456] В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит один или более модифицированных нуклеотидов (например 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более). В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит один или более модифицированных нуклеотидов и/или (например, и) одну или более модифицированных межнуклеотидных связей. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеотид содержит модифицированный остаток сахара (например,

2'-модифицированный нуклеотид). В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит один или более 2'-модифицированных нуклеотидов, например, 2'-дезоксид, 2'-фтор (2'-F), 2'-O-метил (2'-O-Me), 2'-O-метоксиэтил (2'-MOE), 2'-O-аминопропил (2'-O-AP), 2'-O-диметиламиноэтил (2'-O-DMAOE), 2'-O-диметиламинопропил (2'-O-DMAP), 2'-O-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-O-DMAEOE) или 2'-O--N-метилацетиламино (2'-O--NMA) нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеотид антисмысловой цепи является модифицированным нуклеотидом (например, 2'-модифицированным нуклеотидом). В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит один или более фосфодиамидатных морфолинонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь является фосфодиамидатным морфолиновым олигомером (PMO).

[000457] В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит фосфотиоатную или другую модифицированную межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит фосфотиоатные межнуклеозидные связи. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит фосфотиоатные межнуклеозидные связи между по меньшей мере двумя нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит фосфотиоатные межнуклеозидные связи между всеми нуклеотидами. Например, в некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит модифицированные межнуклеотидные связи в первой, второй и/или (например, и) третьей межнуклеозидной связи на 5'- или 3'-конце молекулы мРНК. В некоторых вариантах осуществления модифицированные межнуклеотидные связи являются фосфорсодержащими связями. В некоторых вариантах осуществления фосфорсодержащие связи, которые можно использовать включают, в качестве неограничивающих примеров, фосфотиоаты, хиральные фосфотиоаты, фосфодитиоаты, фосфотриэфиры, аминоалкилфосфотриэфиры, метильные и другие алкильные фосфонаты, содержащие 3'-алкиленфосфонаты и хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфоамидаты, содержащие 3'-аминофосфоамидат и аминоалкилфосфоамидаты, тионофосфоамидаты, тионоалкилфосфонаты, тионоалкилфосфотриэфиры и боранофосфаты, имеющие нормальные 3'-5'-связи, их 2'-5'-связанные аналоги и аналоги, имеющие инвертированную полярность, где смежные пары единиц нуклеозидов связаны 3'-5' с 5'-3' или 2'-5' с 5'-2'; см. патенты США №№ 3687808; 4469863; 4476301; 5023243; 5177196; 5188897; 5264423; 5276019; 5278302; 5286717; 5321131; 5399676; 5405939; 5453496; 5455233; 5466677; 5476925; 5519126; 5536821; 5541306; 5550111; 5563253; 5571799; 5587361 и 5625050.

[000458] Любые из модифицированных химических составов или форматов антисмысловой цепи, представленных в настоящем описании, можно комбинировать друг с другом. Например, в одну антисмысловую цепь можно включать один, два, три, четыре, пять или более разных типов модификаций.

[000459] В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит один или более модифицированных нуклеотидов (например 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более).

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит один или более модифицированных нуклеотидов и/или (например, и) одну или более модифицированных межнуклеотидных связей. В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеотид является модифицированным остатком сахара (например, 2'-модифицированный нуклеотид). В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит один или более 2'-модифицированных нуклеотидов, например, 2'-дезоксид, 2'-фтор (2'-F), 2'-O-метил (2'-O-Me), 2'-O-метоксиэтил (2'-MOE), 2'-O-аминопропил (2'-O-AP), 2'-O-диметиламиноэтил (2'-O-DMAOE), 2'-O-диметиламинопропил (2'-O-DMAP), 2'-O-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-O-DMAEOE) или 2'-O--N-метилацетиламино (2'-O--NMA) нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеотид смысловой цепи является модифицированным нуклеотидом (например, 2'-модифицированным нуклеотидом). В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит один или более фосфодиамидатных морфолинонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь является фосфодиамидатным морфолиновым олигомером (РМО). В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит фосфотиоатную или другую модифицированную межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит фосфотиоатные межнуклеозидные связи. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит фосфотиоатные межнуклеозидные связи между по меньшей мере двумя нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит фосфотиоатные межнуклеозидные связи между всеми нуклеотидами. Например, в некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит модифицированные межнуклеотидные связи в первой, второй и/или (например, и) третьей межнуклеозидной связи на 5'- или 3'-конце смысловой цепи.

[000460] В некоторых вариантах осуществления модифицированные межнуклеотидные связи являются фосфорсодержащими связями. В некоторых вариантах осуществления фосфорсодержащие связи, которые можно использовать, включают, в качестве неограничивающих примеров, фосфотиоаты, хиральные фосфотиоаты, фосфодитиоаты, фосфотриэфиры, аминоалкилфосфотриэфиры, метильные и другие алкильные фосфонаты, содержащие 3'-алкиленфосфонаты и хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфоамидаты, содержащие 3'-аминофосфоамидат и аминоалкилфосфоамидаты, тионофосфоамидаты, тионоалкилфосфонаты, тионоалкилфосфотриэфиры и боранофосфаты, имеющие нормальные 3'-5'-связи, их 2'-5'-связанные аналоги и аналоги, имеющие инвертированную полярность, где смежные пары единиц нуклеозидов связаны 3'-5' с 5'-3' или 2'-5' с 5'-2'; см. патенты США №№ 3687808; 4469863; 4476301; 5023243; 5177196; 5188897; 5264423; 5276019; 5278302; 5286717; 5321131; 5399676; 5405939; 5453496; 5455233; 5466677; 5476925; 5519126; 5536821; 5541306; 5550111; 5563253; 5571799; 5587361 и 5625050.

[000461] Любые из модифицированных химических составов или форматов смысловой цепи, представленных в настоящем описании, можно комбинировать друг с

другом. Например, в одну смысловую цепь можно включать один, два, три, четыре, пять или более разных типов модификаций.

[000462] В некоторых вариантах осуществления антисмысловая или смысловая цепь молекулы миРНК содержит модификации, повышающие или снижающие нагрузку РНК-индуцируемого сайленсинг-комплекса (RISC). В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь молекула миРНК содержит модификации, повышающие нагрузку RISC. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь молекулы миРНК содержит модификации, снижающие нагрузку RISC и нецелевые эффекты. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь молекулы миРНК содержит 2'-О-метоксиэтильную (2'-МОЕ) модификацию. Добавление 2'-О-метоксиэтильной (2'-МОЕ) группы в участок расщепления улучшает специфичность и активность сайленсинга миРНК посредством облегчения ориентированной нагрузки РНК-индуцируемого сайленсинг-комплекса (RISC) модифицированной цепью, как описано в Song et al., (2017) *Mol Ther Nucleic Acids* 9:242-250, включенной в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь молекулы миРНК содержит 2'-О-метилфосфодитионатную модификацию, повышающую нагрузку RISC, как описано в Wu et al., (2014) *Nat Commun* 5:3459, включенной в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

[000463] В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь молекулы миРНК содержит 5'-морфолинонуклеотид, снижающий нагрузку RISC смысловой цепью и улучшающий выбор антисмысловой цепи и активность РНКи, как описано в Kumar et al., (2019) *Chem Commun (Camb)* 55(35):5139-5142, включенной в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь молекулы миРНК модифицирована с помощью синтетического РНК-подобного высокоаффинного аналога нуклеотида, замкнутой нуклеиновой кислоты (ЗНК), снижающей нагрузку RISC смысловой цепью и дополнительно повышающей включение антисмысловой цепи в RISC, как описано в Elman et al., (2005) *Nucleic Acids Res.* 33(1): 439-447, включенной в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь молекулы миРНК содержит модификацию 5'-незамкнутой нуклеиновой кислоты (UNA), снижающей нагрузку RISC смысловой цепью и улучшающей активность сайленсинга антисмысловой цепи, как описано в Snead et al., (2013) *Mol Ther Nucleic Acids* 2(7):e103, включенной в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь молекулы миРНК содержит 5-нитроиндольную модификацию, снижающую активность РНКи смысловой цепи и нецелевые эффекты, как описано в Zhang et al., (2012) *Chembiochem* 13(13):1940-1945, включенной в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит 2'-О-метильную (2'-О-Me) модификацию, снижающую нагрузку RISC и нецелевые эффекты смысловой цепи, как описано в Zheng et al., *FASEB* (2013) 27(10): 4017-4026, включенной в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. В

некоторых вариантах осуществления смысловая цепь молекулы миРНК полностью замещена морфолиновыми, 2'-МОЕ или 2'-О-Ме остатками и не распознается RISC, как описано в Kole et al., (2012) Nature reviews. Drug Discovery 11(2):125-140, включенной в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь молекулы миРНК содержит модификацию 2'-МОЕ, и смысловая цепь содержит модификацию 2'-О-Ме (см. например, Song et al., (2017) Mol Ther Nucleic Acids 9:242-250). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна (например, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 10) молекула миРНК связана (например, ковалентно) с мышечно-специфическим средством. В некоторых вариантах осуществления мышечно-специфическое средство может содержать или состоять из нуклеиновой кислоты (например, ДНК или РНК), пептид (например, антитело), липид (например, микровезикулу) или остаток сахара (например, полисахарид). В некоторых вариантах осуществления мышечно-специфическое средство является антителом. В некоторых вариантах осуществления мышечно-специфическое средство является антителом против рецептора трансферрина (например, любым из антител против TfR, представленных в настоящем описании). В некоторых вариантах осуществления мышечно-специфическое средство можно связывать с 5'-концом смысловой цепи молекулы миРНК. В некоторых вариантах осуществления мышечно-специфическое средство можно связывать с 3'-концом смысловой цепи молекулы миРНК. В некоторых вариантах осуществления мышечно-специфическое средство можно связывать во внутренней части со смысловой цепью молекулы миРНК. В некоторых вариантах осуществления мышечно-специфическое средство можно связывать с 5'-концом антисмысловой цепи молекулы миРНК. В некоторых вариантах осуществления мышечно-специфическое средство можно связывать с 3'-концом антисмысловой цепи молекулы миРНК. В некоторых вариантах осуществления мышечно-специфическое средство можно связывать во внутренней части с антисмысловой цепью молекулы миРНК.

к. МикроРНК (мкРНК)

[000464] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может являться микроРНК (мкРНК). МикроРНК (обозначаемые как "мкРНК") являются небольшими некодирующими РНК, принадлежащими к классу регуляторных молекул, контролирующих экспрессию генов посредством связывания с комплементарными участками на целевом транскрипте РНК. Как правило, мкРНК получают из крупных предшественников РНК (обозначаемых как при-мкРНК), процессируемых в ядре в пре-мкРНК длиной приблизительно 70 нуклеотидов, сворачивающуюся в неидеальные структуры петля-стебель. Эти пре-мкРНК, как правило, подвергаются дополнительной стадии процессинга в цитоплазме, где зрелая мкРНК длиной 18-25 нуклеотидов вырезается с одной стороны шпильки пре-мкРНК ферментом РНКазой III Dicer.

[000465] В рамках изобретения мкРНК включает при-мкРНК, пре-мкРНК, зрелую мкРНК или фрагменты их вариантов, сохраняющие биологическую активность зрелой

мкРНК. В одном из вариантов осуществления диапазон размеров мкРНК может составлять от 21 нуклеотида до 170 нуклеотидов. В другом из вариантов осуществления диапазон размеров мкРНК составляет от 70 до 170 нуклеотидов. В другом варианте осуществления можно использовать зрелую мкРНК длиной от 21 до 25 нуклеотидов.

l. Аптамеры

[000466] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотиды, представленные в настоящем описании, могут находиться в форме аптамеров. Как правило, что касается молекулярной нагрузки, аптамер является любой нуклеиновой кислотой, специфически связывающейся с мишенью, такой как низкомолекулярное соединение, белок, нуклеиновая кислота в клетке. В некоторых вариантах осуществления аптамер является аптамером ДНК или аптамером РНК. В некоторых вариантах осуществления аптамер нуклеиновой кислоты представляет собой одноцепочечную ДНК или РНК (оцДНК или оцРНК). Следует понимать, что одноцепочечный аптамер нуклеиновой кислоты может образовывать спирали и/или (например, и) петлевые структуры. Нуклеиновая кислота, образующая аптамер нуклеиновой кислоты, может содержать природные нуклеотиды, модифицированные нуклеотиды, природные нуклеотиды с углеводородными линкерами (например, алкиленовыми) или полиэфирным линкером (например, PEG-линкером), встроенным между одним или более нуклеотидами, модифицированными нуклеотидами с углеводородными или PEG-линкерами, встроенными между одним или более нуклеотидами, или их комбинацию. Примеры публикаций и патентов, в которых описывают аптамеры и способ получения аптамеров, включают, например, Lorsch and Szostak, 1996; Jayasena, 1999; патенты США №№ 5270163; 5567588; 5650275; 5670637; 5683867; 5696249; 5789157; 5843653; 5864026; 5989823; 6569630; 8318438 и патентную заявку РСТ № WO 99/31275, каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки.

m. Рибозимы

[000467] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотиды, представленные в настоящем описании, могут находиться в форме рибозима. Рибозим (фермент рибонуклеиновой кислоты) представляет собой молекулу, как правило, молекулу РНК, способную осуществлять специфические биохимические реакции, схожие с действием белковых ферментов. Рибозимы являются молекулами с каталитической активностью, включающей способность к расщеплению по специфическим фосфодиэфирным связям в молекулах РНК, с которыми они гибридизуются, таких как мРНК, РНК-содержащих субстратах, lncRNA и самих рибозимах.

[000468] Рибозимы могут принимать форму одной из нескольких физических структур, одну из которых обозначают как "головка молотка". Рибозим-"головка молотка" состоит из каталитического кора, содержащего девять консервативных оснований, двухцепочечного стебля и петлевых структур (петля-стебель II) и двух областей, комплементарных областям, фланкирующим РНК-мишень, каталитического кора. Фланкирующие области позволяют рибозиму связываться с РНК-мишенью специфически

посредством образования двухцепочечных стеблей I и III. Расщепление происходит в цис-положении (т.е. расщепление той же молекулы РНК, которая содержит мотив "головка молотка") или в транс-положении (расщепление иного РНК-субстрата, чем содержащий рибозим) вблизи специфического рибонуклеотидного триплета посредством реакции трансэтерификации из 3', 5'-фосфодиэфира в 2', 3'-циклический фосфодиэфир. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что для этой каталитической активности необходимо наличие специфических, высококонсервативных последовательностей в каталитической области рибозима.

[000469] Модификации в структуре рибозима также включают замену некоровых частей молекулы нуклеотидными молекулами. Например, Benseler et al. (J. Am. Chem. Soc. (1993) 115:8483-8484) описывают подобные "головке молотка" молекулы, в которых две из пар оснований стебля II и все четыре из нуклеотидов петли II, заменяют нуклеозидными линкерами на основе гексаэтиленгликоля, пропандиола, бис(триэтиленгликоль)фосфата, трис(пропандиола)бисфосфата или бис(пропандиол)фосфата. Ma et al. (Biochem. (1993) 32:1751-1758; Nucleic Acids Res. (1993) 21:2585-2589) заменяли петлю из шести нуклеотидов шпильки рибозима TAR нуклеотидными, подобными этиленгликолю линкерами. Thomson et al. (Nucleic Acids Res. (1993) 21:5600-5603) заменяли петлю II линейными, нуклеотидными линкерами длиной 13, 17 и 19 атомов.

[000470] Олигонуклеотиды-рибозимы можно получать хорошо известными способами (см., например, публикации РСТ №№ WO9118624; WO9413688; WO9201806 и WO 92/07065 и патенты США №№ 5436143 и 5650502) или приобретать в коммерческих источниках (например, US Biochemicals) и, при желании, в них можно встраивать аналоги нуклеотидов для повышения резистентности олигонуклеотида к деградации нуклеазами в клетке. Рибозим можно синтезировать любым известным способом, например, с использованием коммерчески доступного синтезатора, производимого, например, Applied Biosystems, Inc. или Milligen. Рибозим также можно получать общепринятыми способами с использованием рекомбинантных векторов. См., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (текущее издание). Последовательности РНК рибозима можно синтезировать общепринятым образом, например, с использованием РНК-полимераз, таких как T7 или SP6.

n. Гидовые нуклеиновые кислоты

[000471] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотиды представляют собой гидовую нуклеиновую кислоту, например, молекулы гидовой РНК (гРНК). Как правило, гидовая РНК является короткой синтетической РНК, состоящей из (1) каркасной последовательности, связывающейся с программируемым нуклеиновой кислотой, ДНК-связывающим белком (napDNAbp), таким как Cas9, и (2) нуклеотидной спейсерной части, определяющей последовательность ДНК-мишени (например, геномной ДНК-мишени), с которой гРНК связывается для сближения программируемого нуклеиновой кислотой, ДНК-связывающего белка с последовательностью ДНК-мишени. В некоторых вариантах

осуществления *parDNA* является программируемым нуклеиновой кислотой белком, образующим комплекс (например, связывающимся или ассоциированным) с одной или более РНК, нацеливающей программируемый нуклеиновой кислотой белок на последовательность ДНК-мишени (например, последовательность геномной ДНК-мишени). В некоторых вариантах осуществления программируемую нуклеиновой кислотой нуклеазу, когда она находится в комплексе с РНК, можно обозначать как комплекса нуклеаза:РНК. Гидовая РНК может существовать в виде комплекса двух или более РНК или в виде одной молекулы РНК.

[000472] Гидовую РНК (гРНК), существующую в виде одной молекулы РНК, можно обозначать как одинарную гидовую РНК (sgRNA), хотя термин "гРНК" также используют для обозначения гидовой РНК, существующей в виде отдельных молекул или комплекса из двух или более молекул. Как правило, гРНК, существующие в виде отдельных РНК, содержат два домена: (1) домен, обладающий гомологии в отношении целевой нуклеиновой кислоты (т.е. направляет связывание комплекса Cas9 с мишенью); и (2) домен, связывающийся с белком Cas9. В некоторых вариантах осуществления домен (2) соответствует последовательности, известной как *tracrRNA* и содержащей структуру петля-стебель. В некоторых вариантах осуществления домен (2) идентичен или гомологичен *tracrRNA*, как описано в Jinek et al., *Science* 337:816-821 (2012), полное содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки.

[000473] В некоторых вариантах осуществления гРНК содержит два или более из доменов (1) и (2), и ее можно обозначать как удлиненную гРНК. Например, удлиненная гРНК будет связываться с двумя или более белками Cas9 и связывается с целевой нуклеиновой кислотой в двух или более отдельных областях, как представлено в настоящем описании. гРНК содержит нуклеотидную последовательность, являющуюся комплементарной участку-мишени, опосредующую связывание комплекса нуклеаза/РНК с указанным участком-мишенью, обеспечивая специфичность последовательности комплекса нуклеаза:РНК. В некоторых вариантах осуществления РНК-программируемая нуклеаза является (CRISPR-ассоциированной системой) эндонуклеазой Cas9, например, Cas9 (Csn1) из *Streptococcus pyogenes* (см., например, "Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes*." Ferretti J.J., McShan W.M., Ajdic D.J., Savic D.J., Savic G., Lyon K., Primeaux C., Sezate S., Suvorov A.N., Kenton S., Lai H.S., Lin S.P., Qian Y., Jia H.G., Najar F.Z., Ren Q., Zhu H., Song L., White J., Yuan X., Clifton S.W., Roe B.A., McLaughlin R.E., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98:4658-4663 (2001); "CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III." Deltcheva E., Chylinski K., Sharma C.M., Gonzales K., Chao Y., Pirzada Z.A., Eckert M.R., Vogel J., Charpentier E., *Nature* 471:602-607 (2011); и "A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity." Jinek M., Chylinski K., Fonfara I., Hauer M., Doudna J.A., Charpentier E. *Science* 337:816-821 (2012), содержание каждой из которых включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

о. Мультимеры

[000474] В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка может содержать мультимеры (например, конкатемеры) 2 или более олигонуклеотидов, соединенных линкером. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления олигонуклеотидную нагрузку комплекса/конъюгата можно повышать за пределами доступных участков связывания на средстве для таргетинга (например, доступных тиоловых участков или аминокислотных участков на антителе) или иным образом корректировать для достижения содержания конкретной нагрузки. Олигонуклеотиды в мультимере могут быть одинаковыми или отличаться (например, быть нацеленными на разные гены или разные участки на одном гене или его продуктах).

[000475] В некоторых вариантах осуществления мультимеры содержат 2 или более олигонуклеотидов, соединенных расщепляемым линкером. Однако в некоторых вариантах осуществления мультимеры содержат 2 или более олигонуклеотидов, соединенных нерасщепляемым линкером. В некоторых вариантах осуществления мультимер содержит 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более соединенных олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления мультимер содержит от 2 до 5, от 2 до 10 или от 4 до 20 соединенных олигонуклеотидов.

[000476] В некоторых вариантах осуществления мультимер содержит 2 или более олигонуклеотида, соединенных "конец-в-конец" (при линейном расположении). В некоторых вариантах осуществления мультимер содержит 2 или более олигонуклеотидов, соединенных "конец-в-конец" с помощью олигонуклеотидного линкера (например, поли-dT-линкера, линкера с удаленными азотистыми основаниями). В некоторых вариантах осуществления мультимер содержит 5'-конец одного олигонуклеотида, соединенный с 3'-концом другого олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления мультимер содержит 3'-конец одного олигонуклеотида, соединенный с 3'-концом другого олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления мультимер содержит 5'-конец одного олигонуклеотида, соединенный с 5'-концом другого олигонуклеотида. Тем не менее, в некоторых вариантах осуществления мультимеры могут содержать разветвленную структуру, содержащую множество олигонуклеотидов, соединенных разветвляющим линкером.

[000477] Дополнительные примеры мультимеров, которые можно использовать в комплексах, представленных в настоящем описании, описаны, например, в патентной заявке США № 2015/0315588 A1, названной *Methods of delivering multiple targeting oligonucleotides to a cell using cleavable linkers*, опубликованной 5 ноября 2015 года; патентной заявке США № 2015/0247141 A1, названной *Multimeric Oligonucleotide Compounds*, опубликованной 3 сентября 2015 года, патентной заявке США № 2011/0158937 A1, названной *Immunostimulatory Oligonucleotide Multimers*, опубликованной 30 июня 2011 года; и патенте США № 5693773, названной *Triplex-Forming Antisense Oligonucleotides Having Abasic Linkers Targeting Nucleic Acids Comprising Mixed Sequences Of Purines And Pyrimidines*, опубликованной 2 декабря 1997 года, содержание каждой из которых включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

о. Изменяющие сплайсинг олигонуклеотиды

[000478] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид (например, антисмысловый олигонуклеотид, включая морфолиновый олигонуклеотид) по настоящему изобретению, нацелен на сплайсинг. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид направленно воздействует на сплайсинг, индуцируя пропуск экзона и восстановление рамки считывания в гене. В качестве неограничивающего примера, олигонуклеотид может индуцировать пропуск экзона, кодирующего мутацию со сдвигом рамки считывания, и/или (например, и) экзона, кодирующего преждевременный стоп-кодон. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может индуцировать пропуск экзона посредством блокирования распознавания сплайсосомой участка сплайсинга. В некоторых вариантах осуществления пропуск экзона приводит к образованию укороченного, но функционального белка по сравнению с референсным белком (например, укороченного, но функционального белка DMD, как описано ниже). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид способствует включению конкретного экзона (например, экзона 7 описанного ниже гена SMN2). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид может индуцировать включение экзона посредством таргетинга ингибирующей участок сплайсинга последовательности. Сплайсинг РНК вовлечен в мышечные заболевания, включая мышечную дистрофию Дюшенна (DMD) и спинальную мышечную атрофию (SMA).

[000479] Изменения (например, делеции, точечные мутации и дупликации) в гене, кодирующем дистрофин (DMD), вызывают DMD. Эти изменения могут приводить к мутациям со сдвигом рамки считывания и/или (например, и) нонсенс-мутациям. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид по настоящему изобретению способствует пропуску одного или более экзонов DMD (например, экзона 8, экзона 43, экзона 44, экзона 45, экзона 50, экзона 51, экзона 52, экзона 53 и/или (например, и) экзона 55) и приводит к образованию функционального укороченного белка. См., например, патент США № 8486907, опубликованный 16 июля 2013 года, и патентную заявку США № 20140275212, опубликованную 18 сентября 2014 года.

[000480] При SMA наблюдают утрату функционального SMN1. Хотя ген SMN2 является апаралогом SMN1, альтернативный сплайсинг гена SMN2 преимущественно приводит к пропуску экзона 7 и последующей продукции укороченного белка SMN, который не может компенсировать утрату SMN1. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид по настоящему изобретению способствует включению экзона 7 SMN2. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид является антисмысловым олигонуклеотидом, нацеленным на ингибиторные последовательности участка сплайсинга SMN2 (см., например, патент США № 7838657, опубликованный 23 ноября 2010 года).

ii. Низкомолекулярные соединения:

[000481] В качестве молекулярной нагрузки, представленной в настоящем описании, можно использовать любое подходящее низкомолекулярное соединение.

iii. Пептиды/белки

[000482] В качестве молекулярной нагрузки, представленной в настоящем описании, можно использовать любой подходящий пептид или белок. В некоторых вариантах осуществления белок является ферментом (например, кислой альфа-глюкозидазой, например, кодируемой геном GAA). Эти пептиды или белки можно продуцировать, синтезировать и/или (например, и) дериватизировать несколькими способами, например, с использованием пептидных библиотек фагового дисплея, пептидных библиотек "одна частица-одно соединение" или комбинаторных библиотек синтетических пептидов с позиционным сканированием. Примеры способов описаны в этой области и включены в качестве ссылок (Gray, B.P. and Brown, K.C. "Combinatorial Peptide Libraries: Mining for Cell-Binding Peptides" Chem Rev. 2014, 114:2, 1020-1081.; Samoylova, T.I. and Smith, B.F. "Elucidation of muscle-binding peptides by phage display screening", Muscle Nerve, 1999, 22:4. 460-6).

iv. Конструкции нуклеиновой кислоты

[000483] В качестве молекулярной нагрузки можно использовать любую подходящую конструкцию для экспрессии гена, как представлено в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления конструкция для экспрессии гена может являться вектором или фрагментом кДНК. В некоторых вариантах осуществления конструкция для экспрессии гена может являться матричной РНК (мРНК). В некоторых вариантах осуществления мРНК, используемая в настоящем описании, может являться модифицированной мРНК, например, как описано в патенте США 8710200, опубликованной 24 апреля 2014 года, названной "Engineered nucleic acids encoding a modified erythropoietin and their expression". В некоторых вариантах осуществления мРНК может содержать 5'-метильный кэп. В некоторых вариантах осуществления мРНК может содержать поли-А-хвост, необязательно, длиной до 160 нуклеотидов. Экспрессирующая конструкция гена может кодировать последовательность белка, дефицитного в мышечных клетках. В некоторых вариантах осуществления экспрессирующую конструкцию гена может экспрессироваться, например, гиперэкспрессироваться, в ядре мышечной клетки. В некоторых вариантах осуществления экспрессирующая конструкция гена кодирует ген, дефицитный при мышечном заболевании. В некоторых вариантах осуществления экспрессирующие конструкции гена кодируют белок, содержащий по меньшей мере один "цинковый палец". В некоторых вариантах осуществления экспрессирующая конструкция гена кодирует белок, связывающийся с геном из таблицы 7. В некоторых вариантах осуществления экспрессирующая конструкция гена кодирует белок, приводящий к снижению экспрессии белка (например, мутантного белка), кодируемого геном из таблицы 7. В некоторых вариантах осуществления экспрессирующая конструкция гена кодирует фермент редактирования генома. Дополнительные примеры конструкций нуклеиновой кислоты, которые можно использовать в качестве молекулярной нагрузки, приведены в публикации международной патентной заявки № WO2017152149 A1, опубликованной 19 сентября 2017 года, названной, "CLOSED-ENDED LINEAR DUPLEX DNA FOR NON-VIRAL GENE TRANSFER"; патенте США № 8853377 B2, выданном 7

октября 2014 года, названном "MRNA FOR USE IN TREATMENT OF HUMAN GENETIC DISEASES"; и патенте США № 8822663 B2, выданном 2 сентября 2014 года, "ENGINEERED NUCLEIC ACIDS AND METHODS OF USE THEREOF", содержание каждой из которых включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

v. Детектируемые метки/диагностические средства

[000484] В качестве молекулярной нагрузки по настоящему изобретению можно использовать любую подходящую детектируемую метку или диагностическое средство. Термин "диагностическое средство" относится к средству, используемому для диагностических целей, например, посредством детекции другой молекулы в клетке или ткани. В некоторых вариантах осуществления диагностическое средство является средством, нацеленным (например, связывающимся) на биомаркер, как известно, ассоциированным с заболеванием (например, нуклеиновой кислотой-биомаркером, белковым биомаркером или метаболитом-биомаркером) у индивидуума, и генерирующим детектируемый сигнал, который можно использовать для определения наличия/отсутствия биомаркера и, таким образом, для диагностики заболевания. В качестве неограничивающих примеров, диагностическое средство может являться антителом или антисмысловой нуклеиновой кислотой.

[000485] В некоторых вариантах осуществления диагностическое средство содержит детектируемую метку. Термин "детектируемая метка" относится к веществу, имеющему по меньшей мере один встроенный элемент, изотоп или структурную или функциональную группу, делающую возможной детекцию молекулы, например, белка или полипептида, или другого вещества, с которым связывается диагностическое средство. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка попадает в любой один (или более) из пяти классов: а) средство, содержащее изотопы, которые могут являться радиоактивными или тяжелыми изотопами, включая, в качестве неограничивающих примеров, ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{67}Ga , ^{76}Br , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ($\text{Tc-}^{99\text{m}}$), ^{111}In , ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{153}Gd , ^{169}Yb и ^{186}Re ; б) средство, содержащее иммуноактивное вещество, которое может являться антителом или антигеном, которое может связываться с ферментом (например, таким как пероксидаза хрена); в) средство, содержащее окрашенное, люминесцентное, фосфоресцентное или флуоресцентное вещество (например, такое как флуоресцентная метка флуоресцеинизотиоцианат (FITC)); г) средство, имеющее один или более фотоаффинных веществ; и е) средство, являющееся лигандом для одного или более известных партнеров по связыванию (например, биотин-стрептавидин, His-NiTNAFK506-FKBP). В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка содержит радиоактивный изотоп. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка содержит флуоресцентное вещество. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка содержит краситель, например, флуоресцентный краситель, например, флуоресцеинизотиоцианат, тexasский красный, родамин, Cy3, Cy5, Cy5,5, Alexa 647 и их производные. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка содержит биотин. В некоторых вариантах

осуществления детектируемая молекула является флуоресцентным полипептидом (например, GFP или его производным, таким как усиленный GFP (EGFP)) или люциферазой (например, люциферазой светлячка, Renilla или Gaussia). В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка может реагировать с подходящим субстратом (например, люциферинном) с генерированием детектируемого сигнала. Неограничивающие примеры флуоресцентных белков включают GFP и его производные, белки, содержащие хромофоры, испускающие свет разных цветов, таких как красный, желтый и голубой флуоресцентный белок, и т.д. Примеры флуоресцентных белков включают, например, Sirius, Azurite, EBFP2, TagBFP, mTurquoise, ECFP, Cerulean, TagCFP, mTFP1, mUkG1, mAG1, AcGFP1, TagGFP2, EGFP, mWasabi, EmGFP, TagYFP, EYFP, Topaz, SYFP2, Venus, Citrine, mKO, mKO2, mOrange, mOrange2, TagRFP, TagRFP-T, mStrawberry, mRuby, mCherry, mRaspberry, mKate2, mPlum, mNeptune, T-Sapphire, mAmetrine, mKeima. См., например, Chalfie, M. and Kain, SR (eds.) Green fluorescent protein: properties, applications, and protocols (Methods of biochemical analysis, v. 47, Wiley-Interscience, and Hoboken, N.J., 2006, и/или (например, и) Chudakov, DM, et al., *Physiol Rev.* 90(3):1103-63, 2010, включенные в настоящее описание в качестве ссылки, для обсуждения GFP и множества других флуоресцентных или люминесцентных белков. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка содержит темновой гаситель, например, вещество, поглощающее энергию возбуждения от флуорофора и рассеивающее энергию в виде тепла.

[000486] Дополнительные примеры комплексов и молекулярной нагрузки (например, олигонуклеотидов, которые можно использовать для таргетинга генов мышц) приведены в публикации международной патентной заявки № WO2020/028861, опубликованной 6 февраля 2020 года, названной "MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING MYOTONIC DYSTROPHY"; публикации международной патентной заявки № WO2020/028864, опубликованной 6 февраля 2020 года, названной "MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING FACIOSCAPULOHUMERAL MUSCULAR DYSTROPHY"; публикации международной патентной заявки № WO2020/028844, опубликованной 6 февраля 2020 года, названной "MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING CENTRONUCLEAR MYOPATHY"; публикации международной патентной заявки № WO2020/028841, опубликованной 6 февраля 2020 года, названной "MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING POMPE DISEASE"; публикации международной патентной заявки № WO2020/028831, опубликованной 6 февраля 2020 года, названной "MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING FIBRODYSPLASIA OSSIFICANS PROGRESSIVA"; публикации международной патентной заявки № WO2020/028840, опубликованной 6 февраля 2020 года, названной "MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING FRIEDREICH'S ATAXIA"; публикации международной патентной заявки № WO2020/028857, опубликованной 6 февраля 2020 года, названной

"MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF"; публикации международной патентной заявки № WO2020/028836, опубликованной 6 февраля 2020 года, названной "MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF IN TREATING MUSCLE ATROPHY"; публикации международной патентной заявки № WO2020/028832, опубликованной 6 февраля 2020 года, названной "MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING DYSTROPHINOPATHIES"; публикации международной патентной заявки № WO2020/028842, опубликованной 6 февраля 2020 года, названной "MUSCLE TARGETING COMPLEXES AND USES THEREOF FOR TREATING HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY"; содержание каждой из которых включено в настоящее описание в качестве ссылки.

В. Линкеры

[000487] Комплексы, представленные в настоящем описании, как правило, содержат линкер, соединяющий любое из антител против TfR, представленных в настоящем описании, с молекулярной нагрузкой. Линкер содержит по меньшей мере одну ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления линкер может являться одинарной связью, например, дисульфидной связью или дисульфидным мостиком, соединяющей антитело против TfR с молекулярной нагрузкой. Однако в некоторых вариантах осуществления линкер может соединять любое из антител против TfR, представленных в настоящем описании, с молекулярной нагрузкой посредством множества ковалентных связей. В некоторых вариантах осуществления линкер может являться расщепляемым линкером. Однако в некоторых вариантах осуществления линкер может являться нерасщепляемым линкером. Линкер, как правило, является стабильным *in vitro*, *in vivo* и в некоторых клеточных контекстах. Кроме того, как правило, линкер не влияет отрицательно на функциональные свойства антитела против TfR или молекулярной нагрузки. В этой области известны примеры и способы синтеза линкеров (см., например, Kline, T. et al. "Methods to Make Homogenous Antibody Drug Conjugates", *Pharmaceutical Research*, 2015, 32:11, 3480-3493.; Jain, N. et al. "Current ADC Linker Chemistry" *Pharm Res.* 2015, 32:11, 3526-3540.; McCombs, J.R. and Owen, S.C. "Antibody Drug Conjugates: Design and Selection of Linker, Payload and Conjugation Chemistry" *AAPS J.* 2015, 17:2, 339-351).

[000488] Предшественник линкера, как правило, будет содержать две разные реакционноспособные частицы, делающие возможным присоединение к антителу против TfR и молекулярной нагрузке. В некоторых вариантах осуществления две разные реакционноспособные частицы может являться нуклеофилом и/или (например, и) электрофилом. В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с антителом против TfR посредством конъюгации с остатком лизина или остатком цистеина антитела против TfR. В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с остатком цистеина антитела против TfR с помощью малеимид-содержащего линкера, где, необязательно, малеимид-содержащий линкер содержит малеимидокапроильную или малеимидометил-циклогексан-1-карбоксилатную группу. В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с остатком цистеина антитела против TfR или тиоловой

функционализированной молекулярной нагрузкой с помощью 3-арилпропионитрильной функциональной группы. В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с остатком лизина антитела против TfR. В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с антителом против TfR и/или молекулярной нагрузкой посредством амидной связи, карбаматной связи гидразидной, триазольной, тиоэфирной или дисульфидной связи.

i. Расщепляемые линкеры

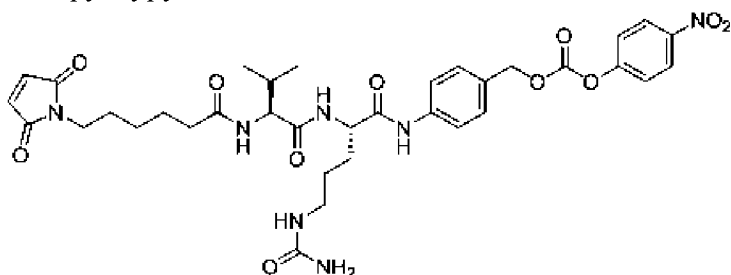
[000489] Расщепляемый линкер может являться протеаза-чувствительным линкером, pH-чувствительным линкером или глутатион-чувствительным линкером. Эти линкеры, как правило, расщепляются исключительно внутриклеточно и, предпочтительно, являются стабильными во внеклеточной среде, например, внеклеточной относительно мышечной клетки.

[000490] Протеаза-чувствительные линкеры расщепляются в результате ферментативной активности протеазы. Эти линкеры, как правило, содержат пептидные последовательности и могут иметь длину 2-10 аминокислот, приблизительно 2-5 аминокислот, приблизительно 5-10 аминокислот, приблизительно 10 аминокислот, приблизительно 5 аминокислот, приблизительно 3 аминокислоты или приблизительно 2 аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления пептидная последовательность может содержать природные аминокислоты, например, цистеин, аланин, или неприродные или модифицированные аминокислоты. Неприродные аминокислоты включают β -аминокислоты, гомо-аминокислоты, производные пролина, 3-замещенные производные аланина, линейные аминокислоты, N-метил-аминокислоты и другие аминокислоты, известные в этой области. В некоторых вариантах осуществления протеаза-чувствительный линкер содержит дипептидную последовательность валин-цитруллин или аланин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления протеаза-чувствительный линкер может расщепляться лизосомальной протеазой, например, катепсином В, и/или (например, и) эндосомальной протеазой.

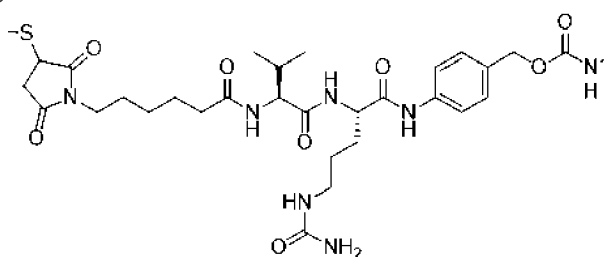
[000491] pH-чувствительный линкер представляет собой ковалентную связь, легко подвергающуюся деградации в условиях высокого или низкого pH. В некоторых вариантах осуществления pH-чувствительный линкер может расщепляться при pH в диапазоне от 4 до 6. В некоторых вариантах осуществления pH-чувствительный линкер содержит гидразон или циклический ацеталь. В некоторых вариантах осуществления pH-чувствительный линкер расщепляется в эндосоме или лизосоме.

[000492] В некоторых вариантах осуществления глутатион-чувствительный линкер содержит дисульфидную связь. В некоторых вариантах осуществления глутатион-чувствительный линкер расщепляется в результате реакции дисульфидного обмена с глутатионовым соединением внутри клетки. В некоторых вариантах осуществления дисульфидная связь дополнительно содержит по меньшей мере одну аминокислоту, например, остаток цистеина.

[000493] В некоторых вариантах осуществления линкер является линкером Val-Cit (например, как описано в патенте США № 6214345, включенном в настоящее описание в качестве ссылки). В некоторых вариантах осуществления перед конъюгацией линкер Val-Cit имеет структуру:

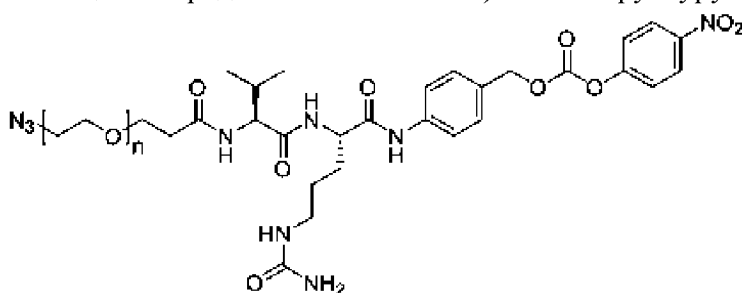


[000494] В некоторых вариантах осуществления после конъюгации линкер Val-Cit имеет структуру:



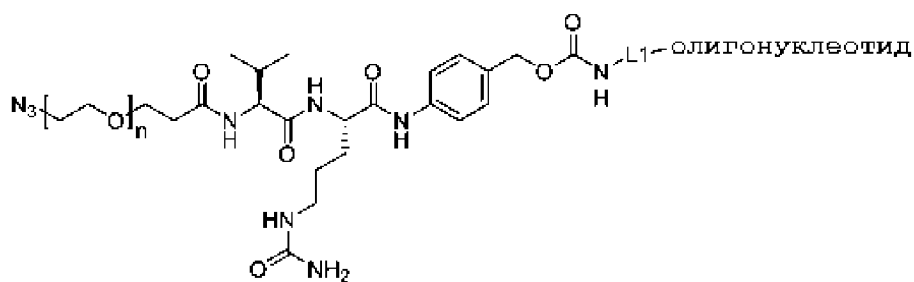
[000495]

[000496] В некоторых вариантах осуществления линкер Val-cit соединяют с реакционноспособным химическим остатком (например, SPAAC для конъюгации). В некоторых вариантах осуществления перед конъюгацией посредством клик-химии линкер val-cit, соединенный с реакционноспособным химическим остатком (например, SPAAC для конъюгации посредством клик-химии) имеет структуру



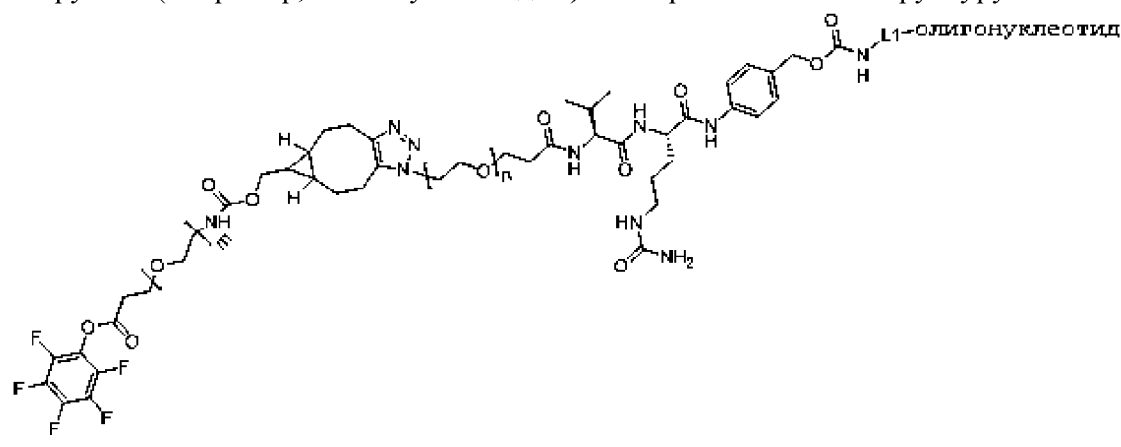
где n является любым числом 0-10. В некоторых вариантах осуществления n составляет 3.

[000497] В некоторых вариантах осуществления линкер val-cit, соединенный с реакционноспособным химическим остатком (например, SPAAC для конъюгации посредством клик-химии), конъюгирован (например, через другой химический остаток) с молекулярной нагрузкой (например, олигонуклеотидом). В некоторых вариантах осуществления линкер val-cit, соединенный с реакционноспособным химическим остатком (например, SPAAC для конъюгации посредством клик-химии) и конъюгированный с молекулярной нагрузкой (например, олигонуклеотидом) имеет структуру (перед конъюгацией посредством клик-химии):



где n является любым числом 0-10. В некоторых вариантах осуществления n составляет 3.

[000498] В некоторых вариантах осуществления после конъюгации с молекулярной нагрузкой (например, олигонуклеотидом) линкер val-cit имеет структуру:



где n является любым числом 0-10, и где m является любым числом 0-10. В некоторых вариантах осуществления n составляет 3, и m составляет 4.

ii. Нерасщепляемые линкеры

[000499] В некоторых вариантах осуществления можно использовать нерасщепляемые линкеры. Как правило, нерасщепляемый линкер не может легко подвергаться деградации в клеточной или физиологической среде. В некоторых вариантах осуществления нерасщепляемый линкер содержит необязательно замещенную алкильную группу, где заместители могут включать галогены, гидроксильные группы, формы кислорода и другие распространенные заместители. В некоторых вариантах осуществления линкер может содержать необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный алкилен, необязательно замещенный арилен, гетероарилен, пептидную последовательность, содержащую по меньшей мере одну неприродную аминокислоту, укороченный гликан, сахар или сахара, которые не могут подвергаться ферментативной деградации, азид, алкин-азид, пептидную последовательность, содержащую последовательность LPXTG (SEQ ID NO: 235), тиозфир, биотин, бифенил, повторяющиеся единицы полиэтиленгликоля или эквивалентных соединений, кислые сложные эфиры, кислые амиды, сульфамиды и/или (например, и) алкокси-аминовый линкер. В некоторых вариантах осуществления для ковалентного связывания антитела против TfR, содержащего последовательность LPXTG (SEQ ID NO: 235), с молекулярной нагрузкой, содержащей последовательность $(G)_n$, будут использовать сортаза-

опосредованное лигирование (см., например Proft T. Sortase-mediated protein ligation: an emerging biotechnology tool for protein modification and immobilization. *Biotechnol Lett.* 2010, 32(1):1-10).

[000500] В некоторых вариантах осуществления линкер может содержать замещенный алкилен, необязательно замещенный алкенилен, необязательно замещенный алкинилен, необязательно замещенный циклоалкилен, необязательно замещенный циклоалкенилен, необязательно замещенный арилен, необязательно замещенный гетероарилен, дополнительно содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из N, O и S,; необязательно замещенный гетероциклилен, дополнительно содержащий по меньшей мере один гетероатом, выбранный из N, O и S,; иминогруппу, необязательно замещенные формы азота, необязательно замещенные формы кислорода O, необязательно замещенные формы серы или поли(алкиленоксид), например, полиэтиленоксид или полипропиленоксид.

iii. Конъюгация линкера

[000501] В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с антителом против TfR и/или (например, и) молекулярной нагрузкой посредством фосфатной, тиоэфирной, простой эфирной, карбаматной, углерод-углеродной или амидной связи. В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с олигонуклеотидом с помощью фосфатной или фосфотиоатной группы, например, концевой фосфата олигонуклеотидного остова. В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с антителом против TfR, например антителом, через остаток лизина или цистеина, присутствующий в антителе против TfR.

[000502] В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с антителом против TfR и/или (например, и) молекулярной нагрузкой с помощью реакции циклоприсоединения между азидом и алкином с образованием триазола, где азид и алкин может находиться на антителе против TfR, молекулярной нагрузке или линкере. В некоторых вариантах осуществления алкин может являться циклическим алкином, например, циклооктином. В некоторых вариантах осуществления алкин может являться бициклонином (также известным как бицикло[6.1.0]нонин или BCN) или замещенным бициклонином. В некоторых вариантах осуществления циклооктан является таким, как описано в публикации международной патентной заявки № WO2011136645, опубликованной 3 ноября 2011 года, названной "Fused Cyclooctyne Compounds And Their Use In Metal-free Click Reactions". В некоторых вариантах осуществления азид может представлять собой молекулу сахара или углевода, содержащую азид. В некоторых вариантах осуществления азид может представлять собой 6-азидо-6-дезоксигалактозу или 6-азидо-N-ацетилгалактозамин. В некоторых вариантах осуществления молекула сахара или углевода, содержащая азид, является такой, как описано в публикации международной патентной заявки № WO2016170186, опубликованной 27 октября 2016 года, названной "Process For The Modification Of A Glycoprotein Using A Glycosyltransferase That Is Or Is Derived From A $\beta(1,4)$ -N-Acetylgalactosaminyltransferase". В некоторых

вариантах осуществления реакция циклоприсоединения между азидом и алкином с образованием триазола, где азид и алкин может находиться на антителе против TfR, молекулярной нагрузке или линкере, является такой, как описано в публикации международной патентной заявки № WO2014065661, опубликованной 1 мая 2014 года, названной "Modified antibody, antibody-conjugate and process for the preparation thereof"; или публикации международной патентной заявки № WO2016170186, опубликованной 27 октября 2016 года, названной "Process For The Modification Of A Glycoprotein Using A Glycosyltransferase That Is Or Is Derived From A $\beta(1,4)$ -N-Acetylgalactosaminyltransferase".

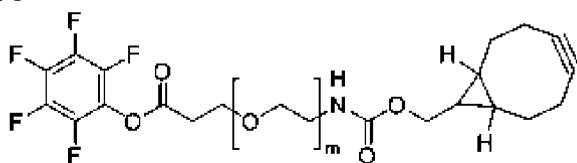
[000503] В некоторых вариантах осуществления линкер дополнительно содержит спейсер, например, полиэтиленгликолевый спейсер или ацил/карбомоил-сульфамидный спейсер, например, спейсер HydraSpace™. В некоторых вариантах осуществления спейсер является таким, как описано в Verkade, J.M.M. et al., "A Polar Sulfamide Spacer Significantly Enhances the Manufacturability, Стабильность, and Therapeutic Index of Antibody-Drug Conjugates", *Antibodies*, 2018, 7, 12.

[000504] В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с антителом против TfR и/или (например, и) молекулярной нагрузкой с помощью реакции Дильса-Альдера между диенофилом и диеном/гетеродиеном, где диенофил и диен/гетеродиен может находиться на антителе против TfR, молекулярной нагрузке или линкере. В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с антителом против TfR и/или (например, и) молекулярной нагрузкой посредством других перициклических реакций, например, еновой реакции. В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с антителом против TfR и/или (например, и) молекулярной нагрузкой с помощью реакции амидной, тиоамидной или сульфонамидной связи. В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с антителом против TfR и/или (например, и) молекулярной нагрузкой с помощью реакции конденсации с образованием оксимной, гидразоновой или семикарбазидной группы, находящейся между линкером и антителом против TfR и/или (например, и) молекулярной нагрузкой.

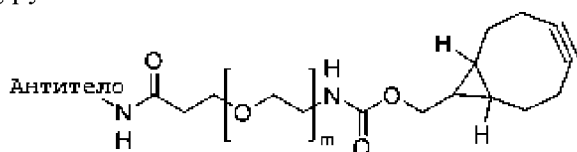
[000505] В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с антителом против TfR и/или (например, и) молекулярной нагрузкой с помощью реакций сопряженного присоединения между нуклеофилом, например, аминогруппой или гидроксильной группой, и электрофилом, например, карбоновой кислотой, карбонатом или альдегидом. В некоторых вариантах осуществления нуклеофил может находиться на линкере, и электрофил может находиться на антителе против TfR или молекулярной нагрузке перед реакцией между линкером и антителом против TfR или молекулярной нагрузкой. В некоторых вариантах осуществления электрофил может находиться на линкере, и нуклеофил может находиться на антителе против TfR или молекулярной нагрузке перед реакцией между линкером и антителом против TfR или молекулярной нагрузкой. В некоторых вариантах осуществления электрофил может являться азидом, пентафторфенилом, кремниевыми центрами, карбонилем, карбоновой кислотой, ангидридом, изоцианатом, тиоизоцианатом, сукцинимидиловым сложным эфиром,

сульфосукцинимидиловым сложным эфиром, малеимидом, алкилгалидом, алкилпсевдогалидом, эпоксидом, эписульфидом, азиридином, арилом, активированным фосфорным центром и/или (например, и) активированным серным центром. В некоторых вариантах осуществления нуклеофил может являться необязательно замещенным алкеном, необязательно замещенным алкином, необязательно замещенным арилом, необязательно замещенным гетероциклилом, гидроксильной группой, аминогруппой, алкиламиногруппой, анилидогруппой или тиоловой группой.

[000506] В некоторых вариантах осуществления линкер val-cit, соединенный с реакционноспособным химическим остатком (например, SPAAC для конъюгации посредством клик-химии), конъюгированы с антителом против TfR с помощью структуры:

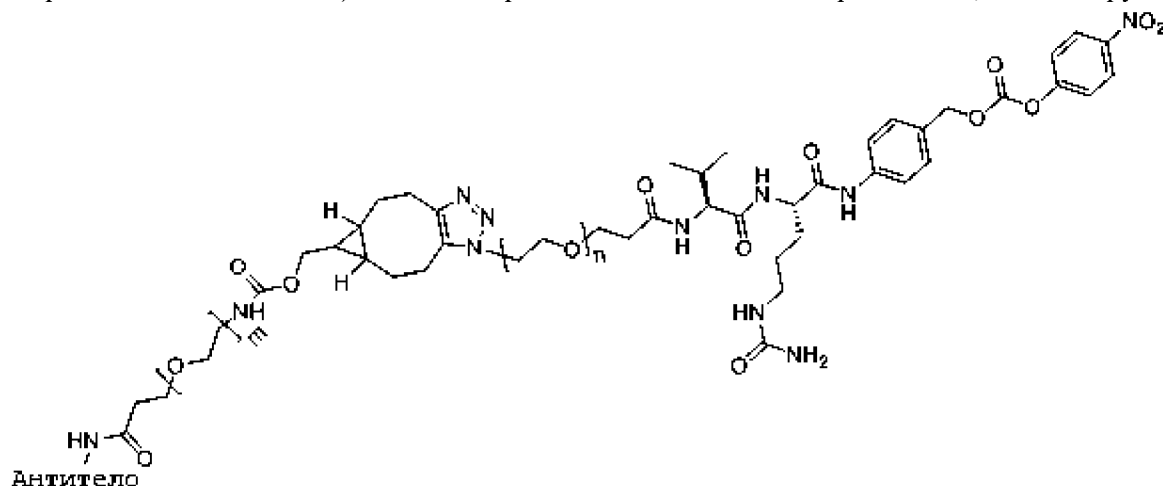


[000507] где m является любым числом 0-10. В некоторых вариантах осуществления m составляет 4. В некоторых вариантах осуществления линкер val-cit, соединенный с реакционноспособным химическим остатком (например, SPAAC для конъюгации посредством клик-химии), конъюгирован с антителом против TfR, имея структуру:



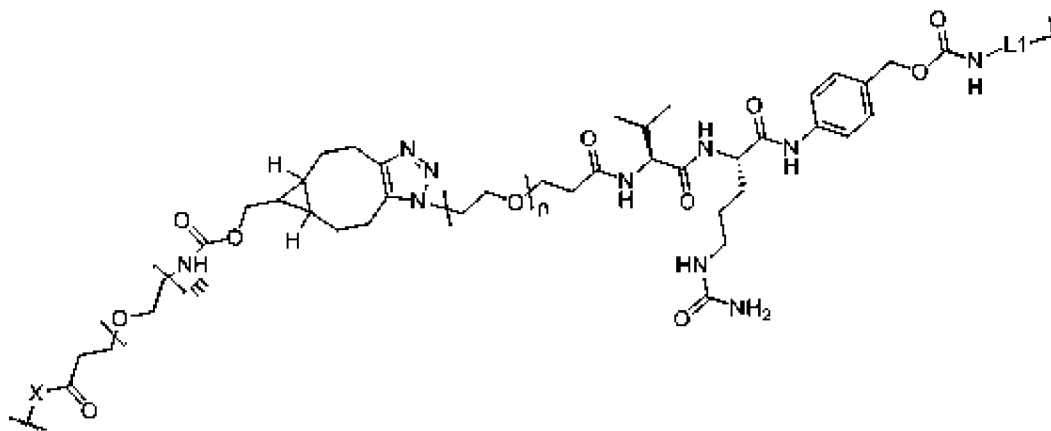
где m является любым числом 0-10. В некоторых вариантах осуществления m составляет 4.

[000508] В некоторых вариантах осуществления линкер val-cit, соединенный с реакционноспособным химическим остатком (например, SPAAC для конъюгации посредством клик-химии) и конъюгированный с антителом против TfR, имеет структуру:



где n является любым числом 0-10, где m является любым числом 0-10. В некоторых вариантах осуществления n составляет 3, и/или (например, и) m составляет 4.

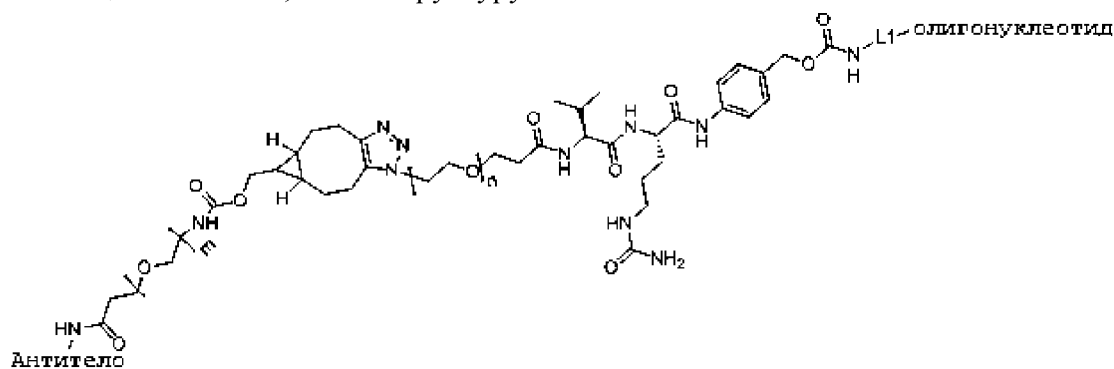
[000509] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR и молекулярная нагрузка (например, олигонуклеотид) соединены с помощью структуры:



(C)

где n является любым числом 0-10, где m является любым числом 0-10. В некоторых вариантах осуществления n составляет 3, и/или (например, и) m составляет 4. В некоторых вариантах осуществления X является NH (например, NH из аминогруппы лизина). В некоторых вариантах осуществления X является S, и антитело связано посредством конъюгации с цистеином антитела. В некоторых вариантах осуществления X является O, и антитело связано посредством конъюгации с гидроксильной группой серина, треонина или тирозина антитела.

[000510] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, имеет структуру:

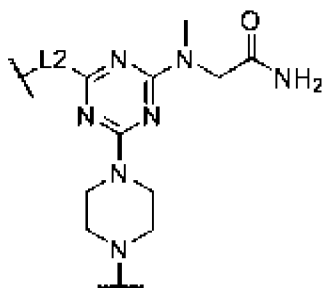


(D)

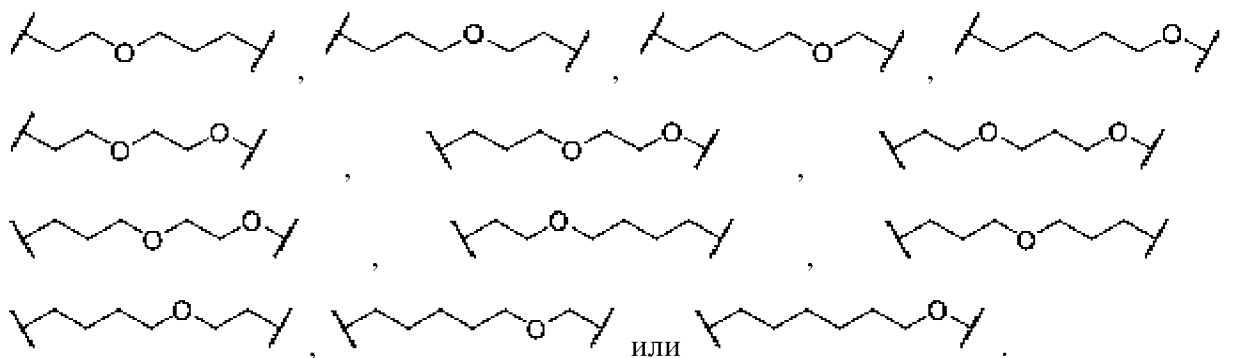
где n является любым числом 0-10, где m является любым числом 0-10. В некоторых вариантах осуществления n составляет 3, и/или (например, и) m составляет 4.

[000511] В структурах формулы (A), (B), (C) и (D) L1 в некоторых вариантах осуществления является спейсером, являющимся замещенным или незамещенным алифатическим, замещенным или незамещенным гетероалифатическим, замещенным или незамещенным карбоциклиленом, замещенным или незамещенным гетероциклиленом, замещенным или незамещенным ариленом, замещенным или незамещенным гетероариленом, -O-, -N(R^A)-, -S-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^A-, -NR^AC(=O)-, -NR^AC(=O)R^A-, -C(=O)R^A-, -NR^AC(=O)O-, -NR^AC(=O)N(R^A)-, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, -

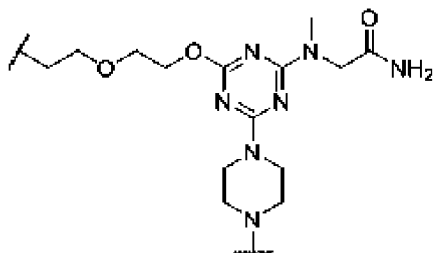
$OC(=O)N(R^A)-$, $-S(O)_2NR^A-$, $-NR^AS(O)_2-$ или их комбинаций. В некоторых вариантах осуществления L1 является



где остаток пиперазина связан с олигонуклеотидом, где L2 является



[000512] В некоторых вариантах осуществления L1 является:



где остаток пиперазин связан с олигонуклеотидом.

[000513] В некоторых вариантах осуществления L1 является



[000514] В некоторых вариантах осуществления L1 связан с 5'-фосфатом олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления L1 связан с 5'-фосфотиоатом олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления L1 связан с 5' фосфоноамидатом олигонуклеотида.

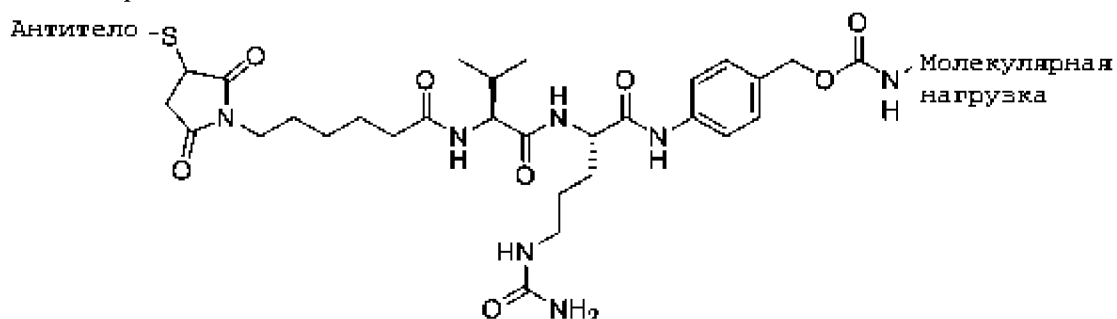
[000515] В некоторых вариантах осуществления L1 является необязательным (например, может не присутствовать).

С. Примеры комплексов антитело-молекулярная нагрузка

[000516] Настоящее изобретение дополнительно относится к неограничивающим примерам комплексов, содержащих любое из антител против TfR, представленных в настоящем описании, ковалентно связанных с любой молекулярной нагрузкой (например, олигонуклеотидом), представленным в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR (например, любое из антител против TfR,

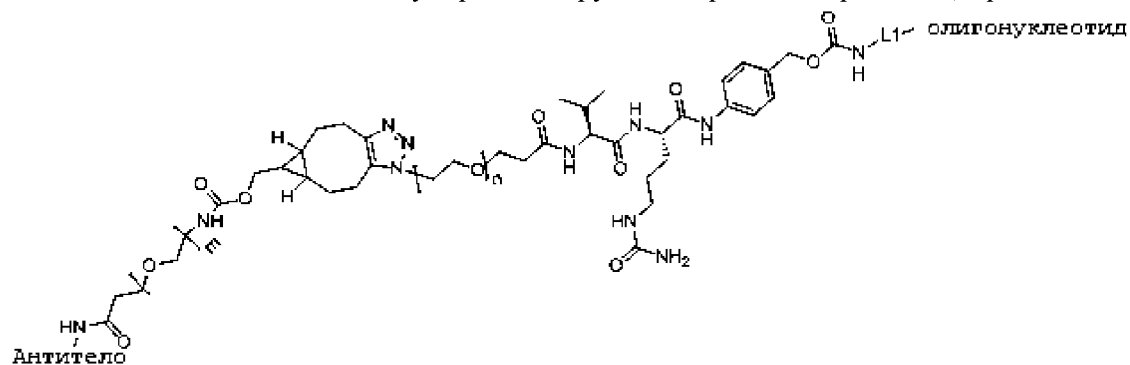
приведенных в таблице 1) ковалентно связано с молекулярной нагрузкой (например, олигонуклеотидом) через линкер. Можно использовать любые из линкеров, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, если молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом, линкер связан с 5'-концом, 3'-концом или внутренней частью олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления линкер связан с антителом против TfR с помощью тиол-реактивной связи (например, через цистеин в антителе против TfR). В некоторых вариантах осуществления линкер (например, линкер Val-cit) связан с антителом (например, антителом против TfR, представленным в настоящем описании) через аминокетильную группу (например, через лизин в антителе).

[000517] Ниже приведен пример структуры комплекса, содержащего антитело против рецептора трансферрина, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой с помощью линкера Val-Cit:



где линкер соединяют с антителом с помощью тиол-реактивной связи (например, через цистеин в антителе).

[000518] Другой пример структуры комплекса, содержащего антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой через линкер Val-cit, приведен ниже:



(D)

где n является числом 0-10, где m является числом 0-10, где линкер соединен с антителом через аминокетильную группу (например, на остатке лизина), и/или (например, и), где линкер соединяют с олигонуклеотидом (например, на 5'-конце, 3'-конце или во внутренней части). В некоторых вариантах осуществления линкер соединяют с антителом через лизин, линкер соединяют с олигонуклеотидом на 5'-конце, n составляет 3, и m составляет 4. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является

олигонуклеотидом, содержащим смысловую цепь и антисмысловую цепь, и, линкер связывают со смысловой цепью или антисмысловой цепью на 5'-конце или 3'-конце.

[000519] Следует понимать, что антитела можно соединять с молекулярной нагрузкой с разной стехиометрией, свойством, которое можно обозначать как соотношение лекарственного средства и антитела (DAR), где "лекарственное средство" является молекулярной нагрузкой. В некоторых вариантах осуществления один олигонуклеотид соединяют с антителом (DAR=1). В некоторых вариантах осуществления две молекулярные нагрузки соединяют с антителом (DAR=2). В некоторых вариантах осуществления три молекулярные нагрузки соединяют с антителом (DAR=3). В некоторых вариантах осуществления четыре молекулярные нагрузки соединяют с антителом (DAR=4). В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к смеси разных комплексов, каждый из которых имеет разное DAR. В некоторых вариантах осуществления среднее DAR комплексов в такой смеси может находиться в диапазоне от 1 до 3, от 1 до 4, от 1 до 5 или более. DAR можно повышать посредством конъюгации молекулярной нагрузки с разными участками на антителе и/или (например, и) посредством конъюгации мультимеров с одним или более участками на антителе. Например, DAR 2 можно достигать посредством конъюгации одной молекулярной нагрузки с двумя разными участками на антителе или посредством конъюгации димерной молекулярной нагрузки с одним участком антитела.

[000520] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, представленное в настоящем описании (например, антитела 3-A4, 3-M12 и 5-H12, приведенные в таблице 1, в форме IgG или FАВ), ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой. В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, представленное в настоящем описании (например, антитела 3-A4, 3-M12 и 5-H12, приведенные в таблице 1, в форме IgG или FАВ), ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой через линкер (например, линкер Val-cit). В некоторых вариантах осуществления линкер (например, линкер Val-cit) связан с антителом (например, антителом против TfR, представленное в настоящем описании) с помощью тиол-реактивной связи (например, через цистеин в антителе). В некоторых вариантах осуществления линкер (например, линкер Val-cit) связывают с антителом (например, антителом против TfR, представленным в настоящем описании) через аминокислотную группу p (например, через лизин в антителе).

[000521] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело против TfR содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, являющиеся теми же, что и CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, приведенные в таблице 3; и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 являющиеся теми же, что и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, приведенные в таблице 3.

[000522] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело против TfR содержит VH, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и VL, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000523] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело против TfR содержит VH, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7 с N в положении 55, замененной T или S, и VL, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000524] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело против TfR содержит VH, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15, и VL, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000525] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело против TfR содержит VH, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23, и VL, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000526] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело против TfR содержит VH, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23 с C в положении 33, замененным Y или D, и VL, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000527] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело против TfR содержит тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 269, SEQ ID NO: 270, SEQ ID NO: 273 или SEQ ID NO: 274, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 179. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000528] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело против TfR содержит тяжелую цепь, имеющую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180 или SEQ ID NO: 186, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 181. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000529] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело против TfR содержит тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 271, SEQ ID NO: 272, SEQ ID NO: 275 или SEQ ID NO: 276, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000530] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит гуманизованное антитело против TfR, представленное в настоящем описании, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело против TfR содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, являющиеся теми же, что и CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, приведенные в таблице 3; и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, являющиеся теми же, что и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, приведенные в таблице 3, и содержит гуманизованный VH и гуманизованный VL. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000531] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело является гуманизованным антителом, содержащим VH, содержащий каркасные области человека с CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 антитела мыши, приведенными в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12), и VL, содержащий каркасные области человека с CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 антитела мыши, приведенными в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12). В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000532] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело содержит VH, содержащий каркасные области человека с CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 VH, приведенного в SEQ ID NO: 7, и VL, содержащий каркасные области человека с CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 VL, приведенного в SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000533] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело содержит VH, содержащий каркасные области человека с CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 VH, приведенного в SEQ ID NO: 15, и VL, содержащий каркасные области человека с CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 VL, приведенного

в SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

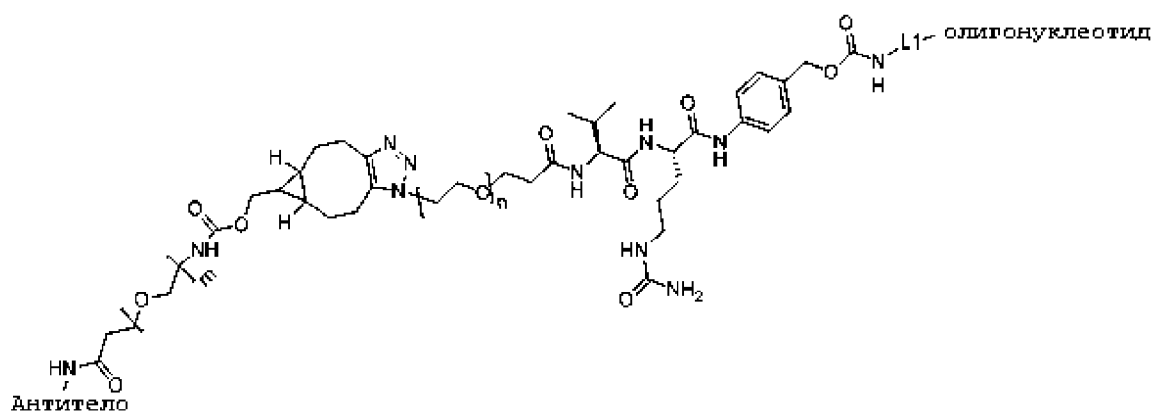
[000534] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело содержит VH, содержащий каркасные области человека с CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 VH, приведенного в SEQ ID NO: 23, и VL, содержащий каркасные области человека с CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 VL, приведенного в SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000535] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело является IgG1 каппа, содержащим каркасные области человека с CDR антитела мыши, приведенными в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12). В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000536] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело является Fab'-фрагментом IgG1 каппа, содержащим каркасные области человека с CDR антитела мыши, приведенными в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12). В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

[000537] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, где антитело является Fab'-фрагментом IgG1 каппа, содержащим каркасные области человека с CDR антитела мыши, приведенными в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12). В некоторых вариантах осуществления молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

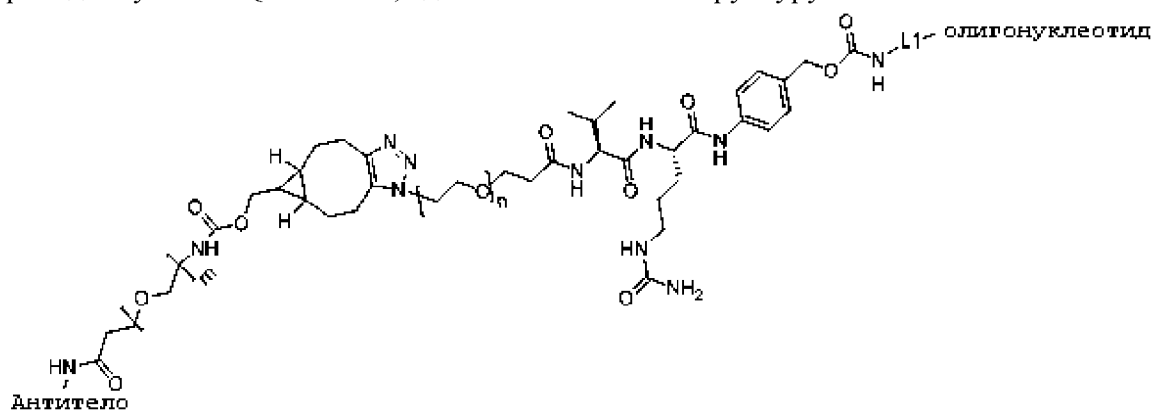
[000538] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит антитело против TfR, ковалентно связанное через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где антитело является Fab'-фрагментом IgG1 каппа, содержащего каркасные области человека с CDR антитела мыши, приведенными в таблице 1 или таблице 3 (например, 3A4, 3M12 или 5H12), где комплекс имеет структуру:



(D)

где n составляет 3, и m составляет 4.

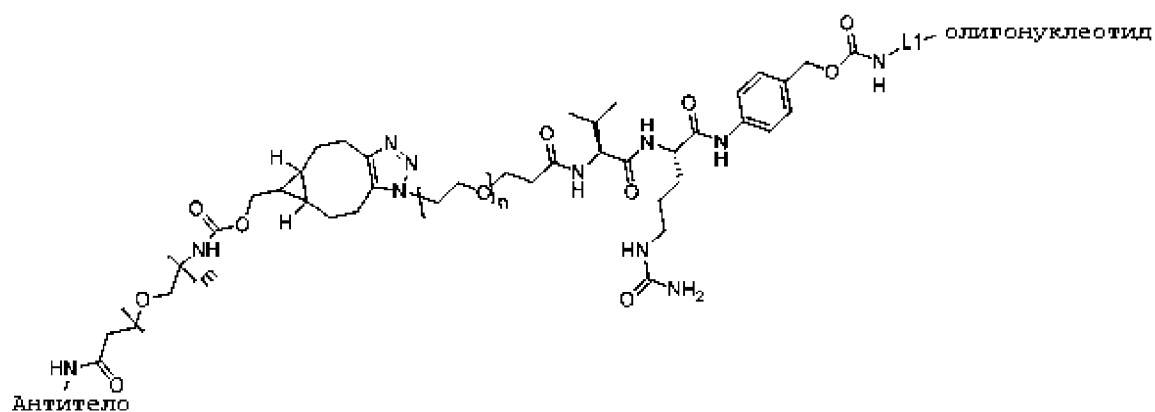
[000539] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 1, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 2, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 3, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 4, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6; где комплекс имеет структуру:



(D)

где n составляет 3, и m составляет 4.

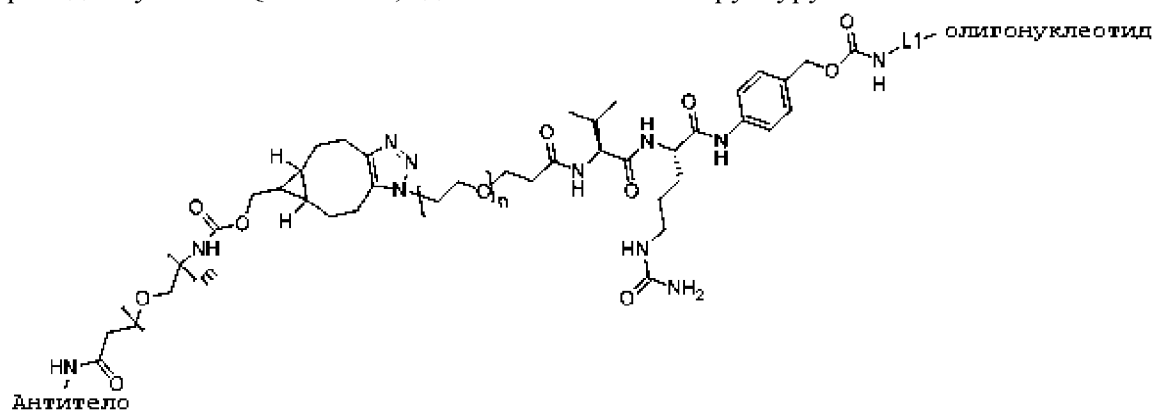
[000540] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 1, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 233, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 3, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 4, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6; где комплекс имеет структуру:



(D)

где n составляет 3, и m составляет 4.

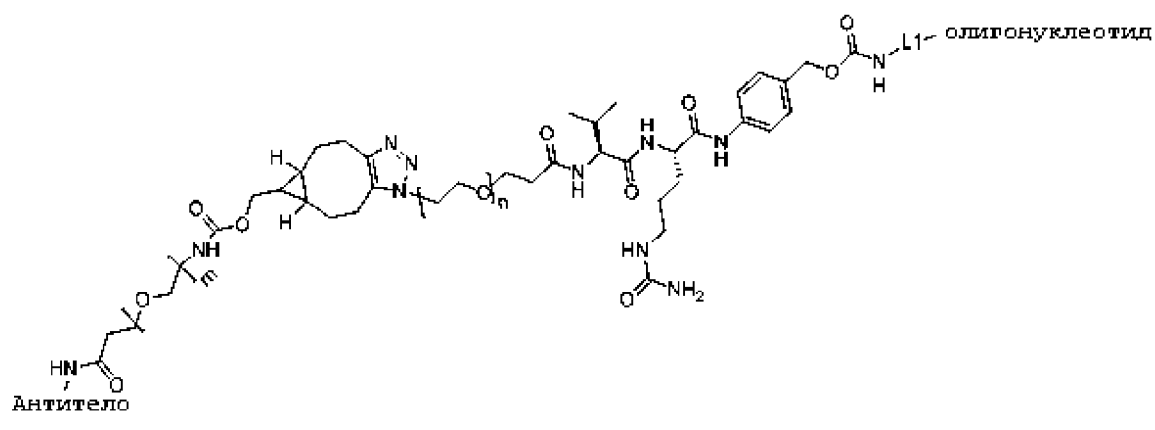
[000541] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 1, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 80, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 3, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 4, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6; где комплекс имеет структуру:



(D)

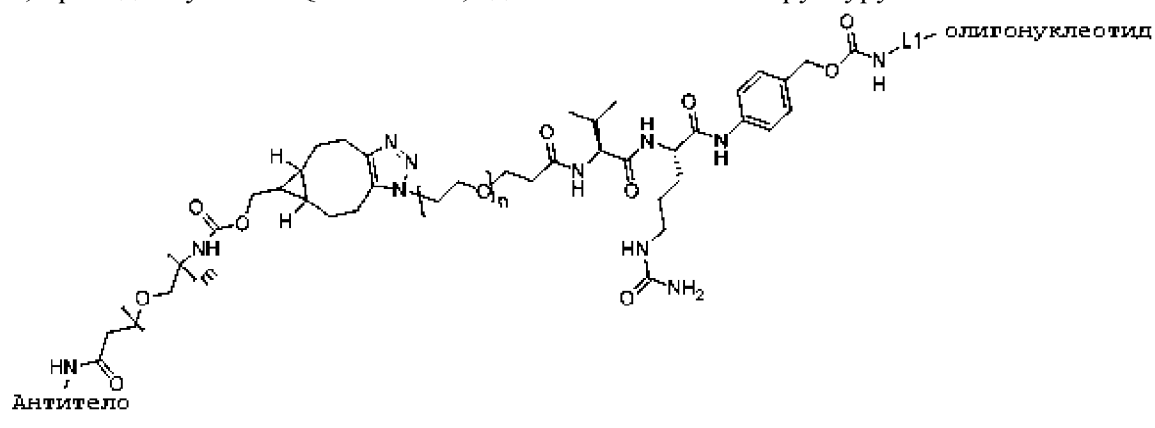
где n составляет 3, и m составляет 4.

[000542] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 9, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 10, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 11, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 12, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 13, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 14; где комплекс имеет структуру:



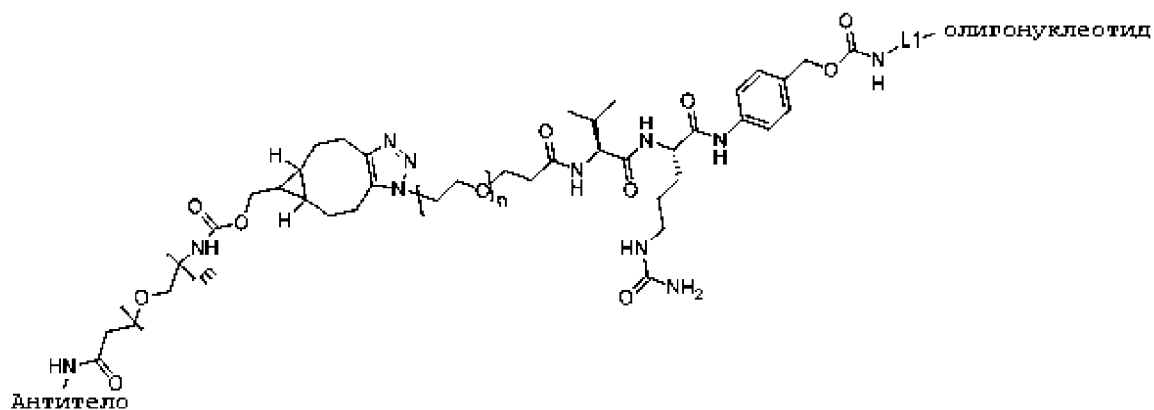
где n составляет 3, и m составляет 4.

[000543] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 17, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 18, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 19, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 20, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22; где комплекс имеет структуру:



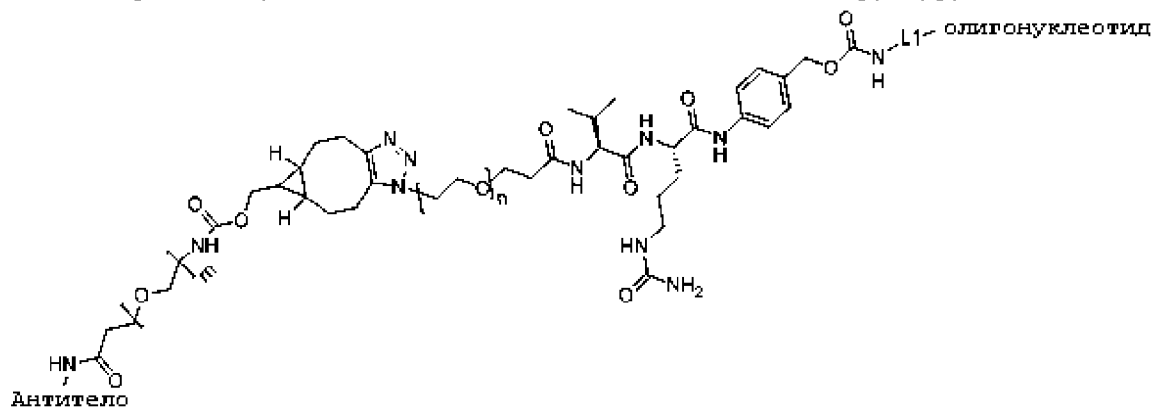
где n составляет 3, и m составляет 4.

[000544] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 237, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 18, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 19, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 20, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22; где комплекс имеет структуру:



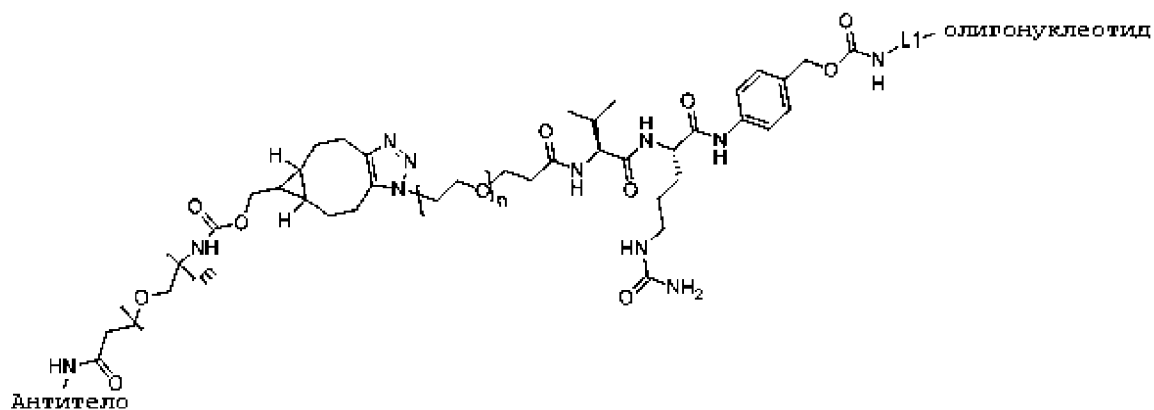
где n составляет 3, и m составляет 4.

[000545] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 239, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 18, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 19, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 20, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22; где комплекс имеет структуру:



где n составляет 3, и m составляет 4.

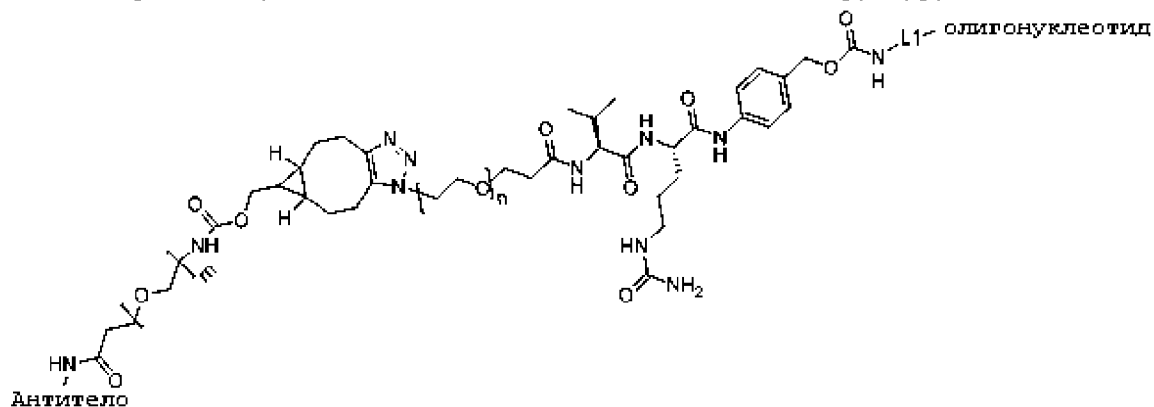
[000546] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 145, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 146, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 147, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 148, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 149, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6; где комплекс имеет структуру:



(D)

где n составляет 3, и m составляет 4.

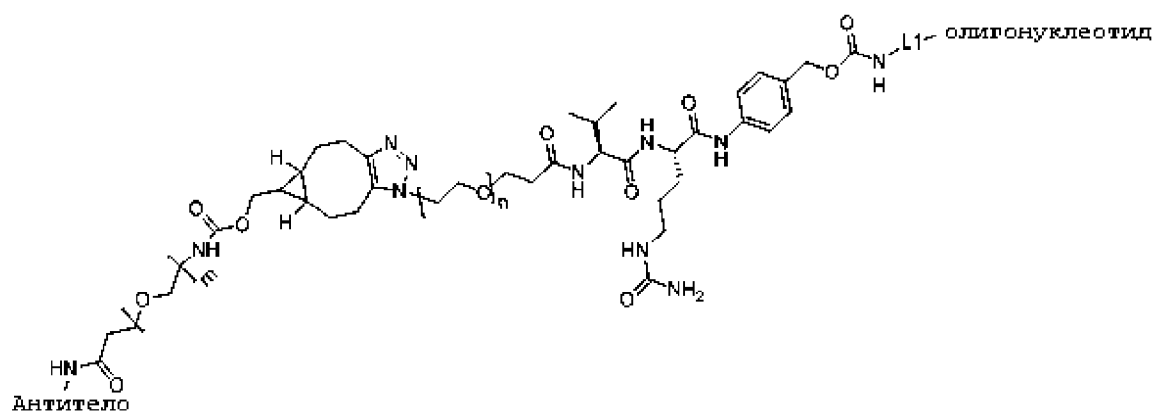
[000547] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 145, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 234, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 147, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 148, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 149, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6; где комплекс имеет структуру:



(D)

где n составляет 3, и m составляет 4.

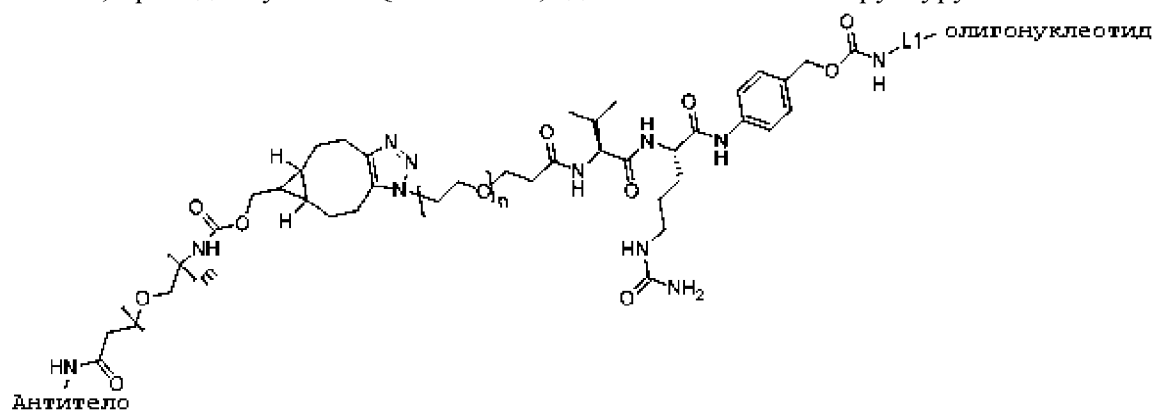
[000548] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 145, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 236, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 147, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 148, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 149, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6; где комплекс имеет структуру:



(D)

где n составляет 3, и m составляет 4.

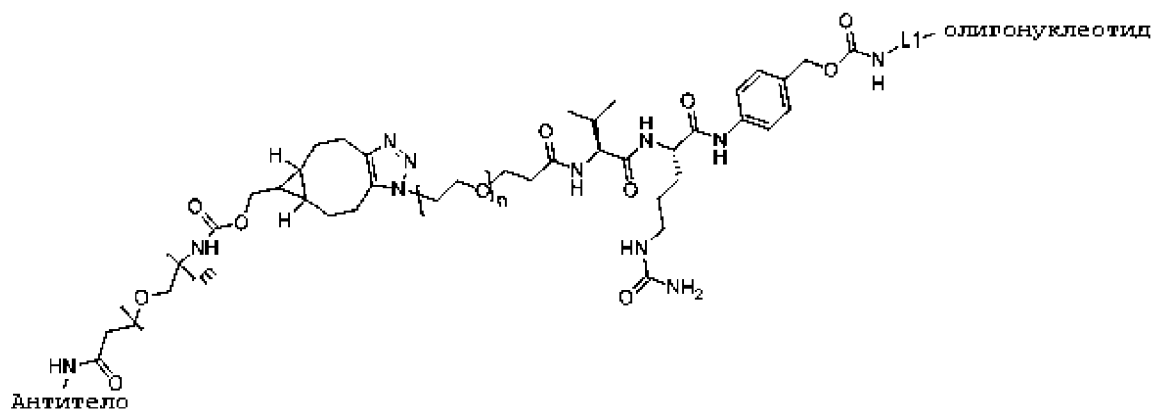
[000549] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 155, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 156, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 157, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 158, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 159, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 14; где комплекс имеет структуру:



(D)

где n составляет 3, и m составляет 4.

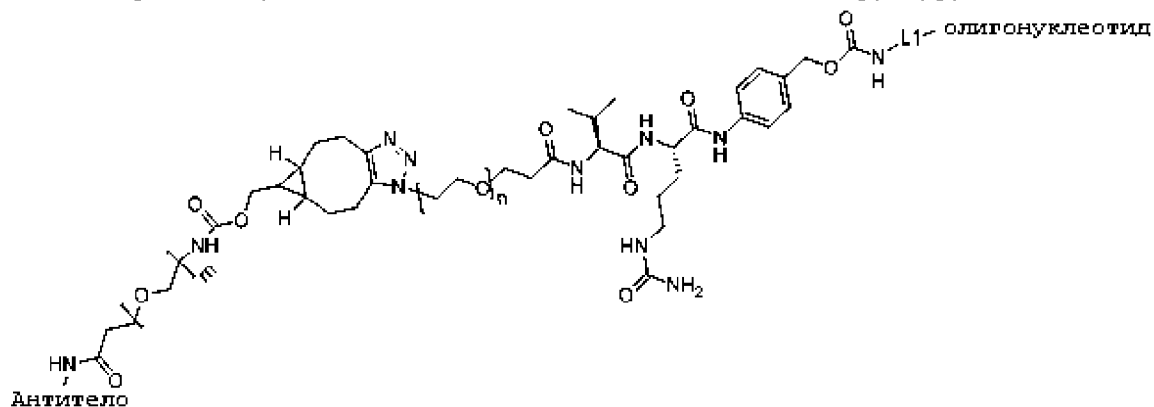
[000550] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 165, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 166, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 167, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 168, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 169, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22; где комплекс имеет структуру:



(D)

где n составляет 3, и m составляет 4.

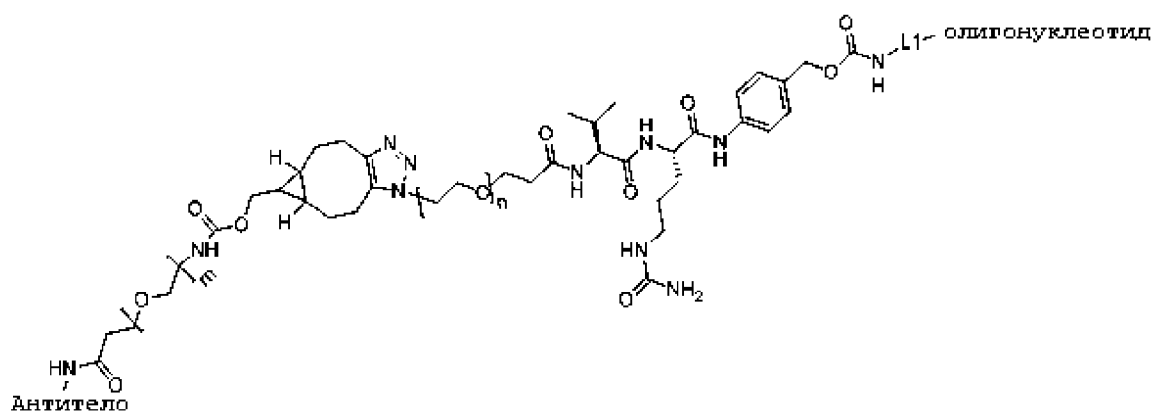
[000551] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 238, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 166, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 167, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 168, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 169, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22; где комплекс имеет структуру:



(D)

где n составляет 3, и m составляет 4.

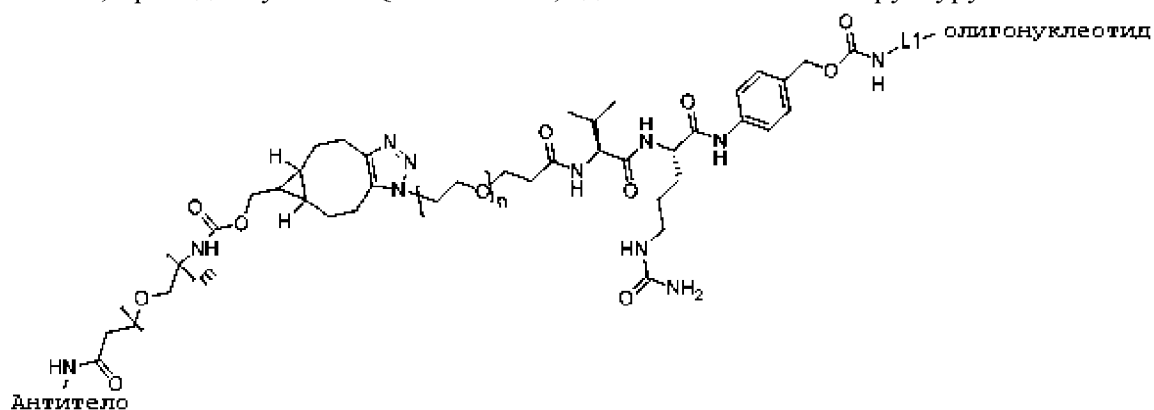
[000552] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 240, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 166, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 167, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 168, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 169, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22; где комплекс имеет структуру:



(D)

где n составляет 3, и m составляет 4.

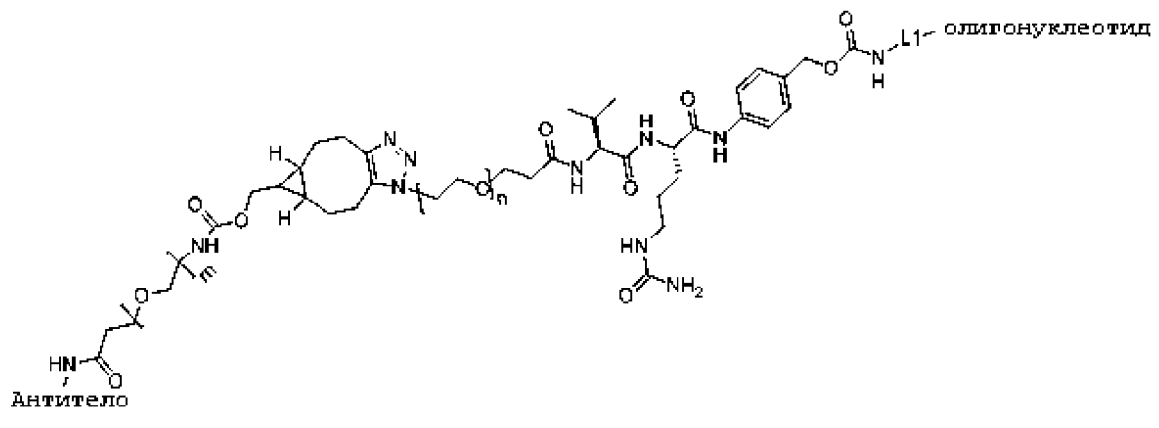
[000553] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 150, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 151, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 152, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 153, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 154; где комплекс имеет структуру:



(D)

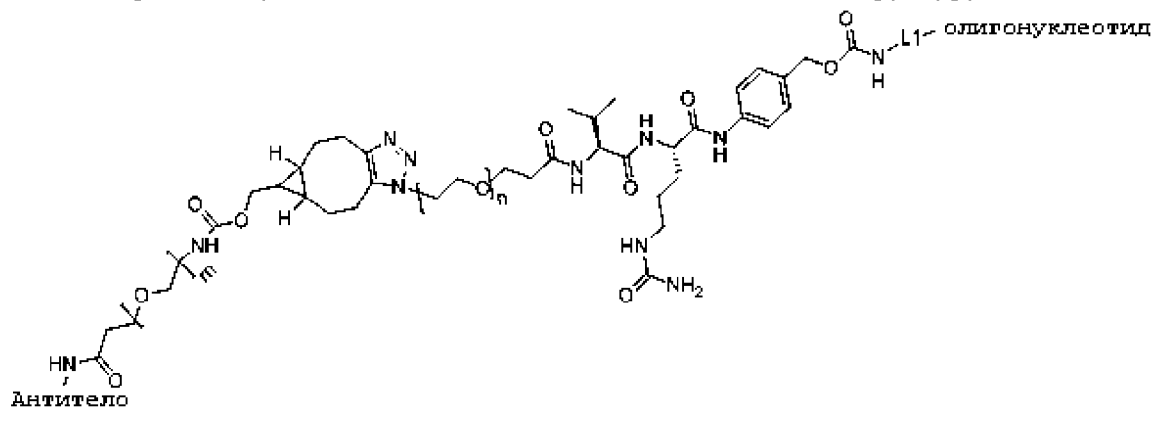
где n составляет 3, и m составляет 4.

[000554] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 150, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 277, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 152, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 153, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 154; где комплекс имеет структуру:



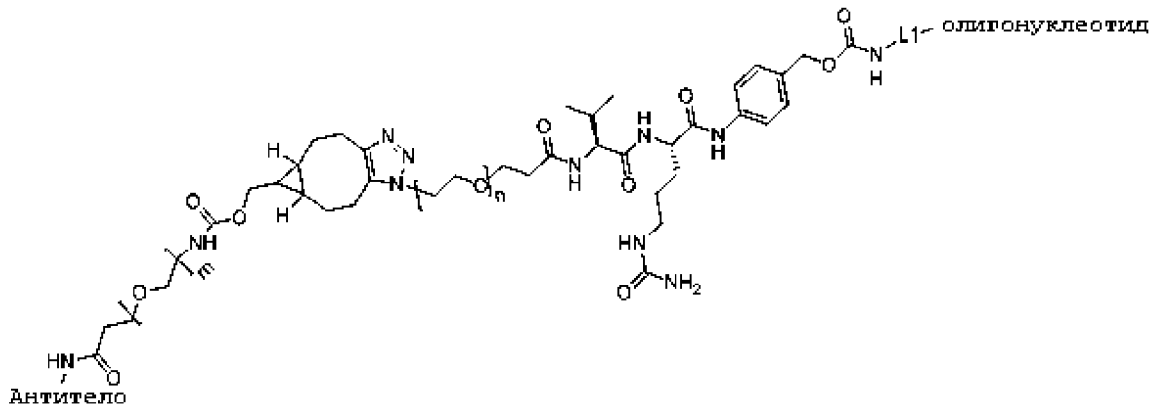
где n составляет 3, и m составляет 4.

[000555] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 150, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 278, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 152, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 153, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 154; где комплекс имеет структуру:



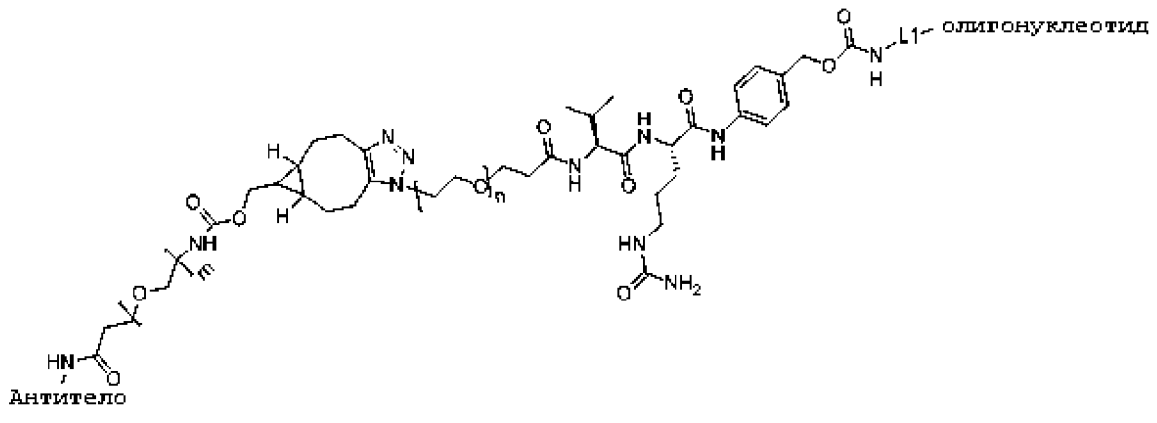
где n составляет 3, и m составляет 4.

[000556] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 160, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 161, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 162, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 163, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 13, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 164; где комплекс имеет структуру:



где n составляет 3, и m составляет 4.

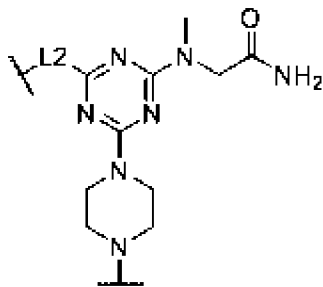
[000557] В некоторых вариантах осуществления комплекс, представленный в настоящем описании, содержит Fab против TfR, ковалентно связанный через лизин с 5'-концом олигонуклеотида, где Fab против TfR содержит CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 170, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 171, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 172, CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 173, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 174; где комплекс имеет структуру:



где n составляет 3, и m составляет 4.

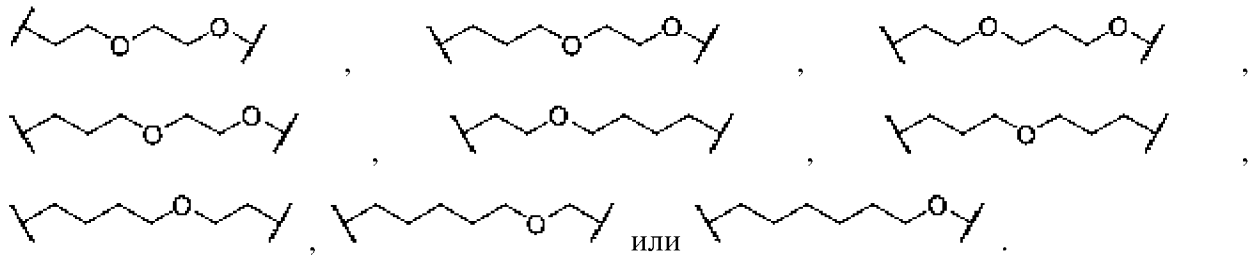
[000558] В некоторых вариантах осуществления в любом из примеров комплексов, представленных в настоящем описании, L1 является любым из спейсеров, представленных в настоящем описании.

[000559] В некоторых вариантах осуществления L1 является:

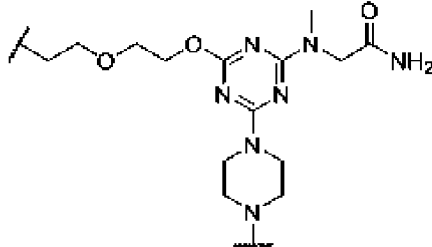


где остаток пиперазина связан с олигонуклеотидом, где L2 является





[000560] В некоторых вариантах осуществления L1 является:



где остаток пиперазина связан с олигонуклеотидом.

[000561] В некоторых вариантах осуществления L1 является



[000562] В некоторых вариантах осуществления L1 связан с 5'-фосфатом олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления L1 связан с 5'-фосфотиоатом олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления L1 связан с 5'-фосфоамидамом олигонуклеотида.

[000563] В некоторых вариантах осуществления L1 является необязательным (например, может не присутствовать).

IV. Составы

[000564] Комплексы антител против TfR, представленные в настоящем описании, можно составлять любым подходящим образом. Как правило, антитела или комплексы, представленные в настоящем описании, составляют способ, подходящим для фармацевтического применения. Например, антитела или комплексы можно вводить индивидууму с использованием состава, минимизирующего деградацию, облегчающего доставку и/или (например, и) захват или обеспечивающего другое благоприятное свойство комплексов в составе. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к композициям, содержащим антитела или комплексы и фармацевтически приемлемые носители. Такие композиции можно соответствующим образом составлять таким образом, что, при введении индивидууму в непосредственное окружение клетки-мишени или системно, в целевые мышечные клетки проникает достаточное количество комплексов. В некоторых вариантах осуществления антитела или комплексы составляют в буферных растворах, таких как растворы фосфатно-солевого буфера, липосомах, мицеллярных структурах и капсидах.

[000565] Следует понимать, что в некоторых вариантах осуществления композиции могут включать отдельно один или более компонентов комплексов, представленных в

настоящем описании (например, антитела против TfR, линкеры, молекулярную нагрузку или молекулы-предшественники любых из них).

[000566] В некоторых вариантах осуществления антитела или комплексы составляют в воде или водном растворе (например, воде с корректировкой pH). В некоторых вариантах осуществления антитела или комплексы составляют в основных забуференных водных растворах (например, PBS). В некоторых вариантах осуществления составы, представленные в настоящем описании, содержат эксципиент. В некоторых вариантах осуществления эксципиент придает композиции улучшенную стабильность, улучшенную абсорбцию, улучшенную растворимость и/или (например, и) терапевтическое усиление активного ингредиента. В некоторых вариантах осуществления эксципиент является буферным средством (например, цитратом натрия, фосфатом натрия, Трис-основанием или гидроксидом натрия) или носителем (например, забуференным раствором, петролатум, диметилсульфоксид или минеральное масло).

[000567] В некоторых вариантах осуществления комплекс или его компонент (например, олигонуклеотид или антитело) лиофилизируют для увеличения его срока годности, а затем превращают в раствор перед использованием (например, введением индивидууму). Таким образом, эксципиент в композиции, содержащей комплекс или его компонент, представленный в настоящем описании, может являться лиопротектором (например, маннитом, лактозой, полиэтиленгликолем или поливинилпирролидоном) или модификатором температуры разрушения (например, декстраном, фикоаллом или желатином).

[000568] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию составляют так, чтобы она была совместимой с предполагаемым путем введения. Примеры путей введения включают парентеральное, например, внутривенное, внутривоженное, подкожное, введение. Как правило, путь введения является внутривенным или подкожным.

[000569] Фармацевтические композиции, подходящие для инъекционного использования, включают стерильные водные растворы (в случае водорастворимых соединений) или дисперсии, и стерильные порошки для экстемпорального получения стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Носитель может являться растворителем или дисперсионной средой, содержащей, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси. В некоторых вариантах осуществления составы включают изотонические средства, например, сахара, полиспирты, такие как маннит, сорбит, и хлорид натрия в композиции. Стерильные инъекционные растворы можно получать посредством включения комплексов в необходимом количестве в выбранном растворителе с одним из ингредиентов, перечисленных выше, или их комбинацией, при необходимости, после стерилизации фильтрации.

[000570] В некоторых вариантах осуществления композиция может содержать по меньшей мере приблизительно 0,1% комплекса или его компонента или более, хотя

процентная доля активных ингредиентов может составлять от приблизительно 1% до приблизительно 80% или более по массе или объему общей композиции. При получении таких фармацевтических составов специалист в этой области будет учитывать факторы, такие как растворимость, биодоступность, биологическое время полужизни, путь введения, срок годности продукта, а также другие фармакологические факторы, и, в связи с этим, желательными могут являться разные дозы и схемы лечения.

V. Способы применения

[000571] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к различному применению антител против TfR, фрагментов или вариантов антител, кодирующих их нуклеиновых кислот и комплексов, представленных в настоящем описании, включая исследования, диагностические способы, способы детекции и терапевтические способы. В некоторых вариантах осуществления антитела против TfR, представленные в настоящем описании, используют для доставки молекулярной нагрузки (например, диагностического или терапевтического средства) в целевую клетку или ткань, экспрессирующую рецептор трансферрина. В некоторых вариантах осуществления клетка-мишень является мышечной клеткой. В некоторых вариантах осуществления целевая ткань является мышечной. В некоторых вариантах осуществления целевая ткань является головным мозгом. Для доставки молекулярной нагрузки антитело против TfR можно конъюгировать (например, ковалентно конъюгировать) с молекулярной нагрузкой для получения комплекса.

а. Диагностические способы и способы детекции

[000572] Настоящее изобретение также относится к применению любого из описанных выше антител, антигенсвязывающих фрагментов, полинуклеотидов, векторов или клеток и, необязательно, подходящих средств в диагностических способах и/или (например, и) способах детекции. Антитела или антигенсвязывающие фрагменты, например, подходят для использования в иммунологических анализах, в которых их можно использовать в жидкой фазе или связанными с твердофазным носителем. Примерами иммунологических анализов, в которых можно использовать антитело или антигенсвязывающие фрагменты, являются конкурентные и неконкурентные иммунологические анализы в прямом или непрямом формате. Примерами таких иммунологических анализов являются твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), радиоиммунологический анализ (RIA), анализ сэндвич-типа (иммунометрический анализ), проточная цитометрия, вестерн-блоттинг, иммунопреципитация, иммуногистохимия, иммуномикроскопия, иммунохроматографические анализы и протеомные чипы. Антигены и антитела или антигенсвязывающие фрагменты можно связывать со множеством разных твердых подложек (например, носителей, мембран, колонок, протеомных чипов и т.д.). Примеры хорошо известных материалов твердых подложек включают стекло, полистирол, поливинилхлорид, поливинилидендифторид, полипропилен, полиэтилен, поликарбонат, декстран, нейлон, амилозы, природные и модифицированные целлюлозы, такие как нитроцеллюлоза, полиакриламиды, агарозы и

магнетит. Материал подложки может являться фиксированным или суспендированным в растворе (например, бусы).

[000573] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против TfR, представленных в настоящем описании, можно использовать для детекции наличия рецептора трансферрина в биологическом образце. В рамках изобретения термин "детекция" включает количественную или качественную детекцию. В некоторых вариантах осуществления биологический образец содержит клетку или ткань, такую как кровь, CSF и BBB-содержащую ткань. Биологический образец может находиться *in vitro* (например, в культуре) или *in vivo* (например, в организме индивидуума). Настоящее изобретение также относится к применению любого из антител против TfR, представленных в настоящем описании, в исследованиях (например, в качестве реагента для иммунологических анализов, таких как вестерн-блоттинг, иммуноокрашивание, ELISA и/или (например, и) FACS).

[000574] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителу против TfR для применения в способе диагностики или детекции. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу детекции наличия рецептора трансферрина в биологическом образце. В некоторых вариантах осуществления способ включает приведение биологического образца в контакт с антителом против TfR, как представлено в настоящем описании, в условиях, допускающих связывание антитела против TfR с рецептором трансферрина, и детекцию образования комплекса между антителом против TfR и рецептором трансферрина. Такой способ может являться способом *in vitro* или *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR используют для выбора индивидуумов, подходящих для терапии антителом против TfR, например, если рецептор трансферрина является биомаркером для выбора пациентов.

[000575] Примеры нарушений, которые можно диагностировать с использованием антитела против TfR, представленного в настоящем описании, включают нарушения, включающие незрелые эритроциты, из-за того, что рецептор трансферрина экспрессируется на ретикулоцитах, и, таким образом, его можно определять с помощью любых из антител по изобретению. Такие нарушения включают анемию и другие нарушения, возникающие из-за сниженных уровней ретикулоцитов, или конгенитальную полицитемию или неопластическую истинную полицитемию, где повышенные количества эритроцитов по причине гиперпролиферации, например, ретикулоцитов приводит к загущению крови и сопутствующим физиологическим симптомам.

[000576] В некоторых вариантах осуществления для детекции наличия/уровня рецептора трансферрина в биологическом образце используют меченые антитела против TfR. В качестве неограничивающих примеров, метки включают метки или вещества, определяемые напрямую (такие как флуоресцентные, хромофорные, электронно-плотностные, хемилюминесцентные и радиоактивные метки), а также вещества, такие как ферменты или лиганды, определяемые косвенно, например, посредством ферментативной реакции или молекулярного взаимодействия. Неограничивающие примеры метки

включают радиоактивные изотопы ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H и ^{131}I , флуорофоры, такие как редкоземельные хелаты или флуоресцеин и его производные, родамин и его производные, данзил, умбеллиферон, люциферазы, например, люциферазы светлячка и бактериальной люциферазы (патент США № 4737456), люциферин, 2,3-дигидрофталазиндионы, пероксидазу хрена (HRP), щелочную фосфатазу, β -галактозидазу, глюкоамилазу, лизоцим, сахаридоксидазы, например, глюкозо-оксидазу, галактозо-оксидазу, и глюкоза-6-фосфат-дегидрогеназу, гетероциклические оксидазы, такие как уриказа и ксантинооксидаза, сопряженные с ферментом, использующим пероксид водорода для окисления предшественника красителя, таким как HRP, лактопероксидаза или микропероксидаза, биотин/авидин, спиновые метки, метки-бактериофаги, стабильные свободные радикалы и т.п. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка является средством, подходящим для детекции рецептора трансферрина в клетке *in vitro*, которое может являться радиоактивной молекулой, радиофармацевтическим средством или частицей оксида железа. Радиоактивные молекулы, подходящие для визуализации *in vivo* включают, в качестве неограничивающих примеров, ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{18}F , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{211}At , ^{225}Ac , ^{177}Lu , ^{153}Sm , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{67}Cu , ^{213}Bi , ^{212}Bi , ^{212}Pb и ^{67}Ga . Примеры радиофармацевтических средств, подходящих для визуализации *in vivo*, включают ^{111}In -оксихинолин, ^{131}I -йодид натрия, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -меброфенин и $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -эритроциты, ^{123}I -йодид натрия, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -эксаметазим, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -макроагрегат альбумина, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -медронат, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -мертиатид, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -оксидронат, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -пентетат, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -пертехнетат, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -сестамиби, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -коллоидная сера, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -тетрофосмин, таллий-201 или ксенон-133.

[000577] В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, представленное в настоящем описании, можно использовать для доставки детектируемой метки в целевую клетку или ткань (например, мышечную клетку или через гематоэнцефалитический барьер в головной мозг) для визуализации клетки или ткани (например, посредством флуоресцентной микроскопии или магнитно-резонансной томографии (MRI)). С этой целью можно использовать любые из детектируемых меток, представленных в настоящем описании.

[000578] В некоторых вариантах осуществления у антитела против TfR, используемого в диагностическом способе или способе детекции, отсутствует эффекторная функция, или оно имеет сниженную эффекторную функцию. В некоторых вариантах осуществления антитело против TfR, используемое в диагностическом способе/способе детекции, конструируют так, чтобы оно не имело эффекторную функцию или имело сниженную эффекторную функцию (например, используя Fab, модифицируя остов Ig, встраивая одну или более мутаций в Fc, снижающих или устраняющих эффекторную функцию, и/или (например, и) модифицируя гликозилирование антитела).

[000579] Доступны различные способы определения связывания антитела с рецептором трансферрина. Одним из таких анализов является твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) для подтверждения способности связывания с рецептором трансферрина человека (и антигеном головного мозга). В этом анализе

планшеты, покрытые антигеном (например, рекомбинантным рецептором трансферрина), инкубируют с образцом, содержащим антитело против TfR, и определяют связывание антитела с интересующим антигеном.

[000580] Для проведения диагностического анализа *in vivo* подходящее количество антител против TfR, конъюгированных с меткой (например, средством для визуализации или контрастным средством), можно вводить индивидууму, нуждающемуся в обследовании. Наличие меченого антитела можно определять с учетом сигнала, высвобождаемого меткой, общепринятыми способами. Специалистам в этой области известны анализы для оценки захвата системно вводимого антитела и другой биологической активности антитела.

[000581] При проведении научных исследовательских анализов антитело против TfR можно использовать для исследования биологической активности рецептора трансферрина и/или (например, и) детекции внутриклеточного наличия рецептора трансферрина. Например, подходящее количество антитела против TfR можно приводить в контакт с образцом (например, новым типом клеток, ранее не идентифицированным как продуцирующие рецептор трансферрина клетки), как предполагают, продуцирующим рецептор трансферрина. Антитело и образец можно инкубировать в подходящих условиях в течение подходящего периода времени для связывания антитела с антигеном-рецептором трансферрина. Затем такое взаимодействие можно определять общепринятыми способами, например, посредством ELISA, гистологического окрашивания или FACS.

в. Способы лечения

[000582] Антитела против TfR, представленные в настоящем описании, можно использовать для доставки молекулярной нагрузки, являющейся терапевтическими средствами (например, олигонуклеотидами, пептидами/белками, конструкциями нуклеиновой кислоты и т.д.). В некоторых аспектах настоящее изобретение также относится к комплексам, содержащим антитело против TfR, ковалентно конъюгированные с молекулярной нагрузкой, для применения в лечении заболеваний.

[000583] В некоторых аспектах комплексы, содержащие антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, как представлено в настоящем описании, являются эффективными в лечении мышечного заболевания (например, редкого мышечного заболевания или мышечной атрофии). В некоторых вариантах осуществления комплексы являются эффективными в лечении редкого мышечного заболевания, приведенного в таблице 7. В некоторых вариантах осуществления мышечное заболевание ассоциировано с аллелем заболевания, например, аллелем заболевания для конкретного мышечного заболевания, который может содержать генетическое изменение в соответствующем гене, приведенном в таблице 7.

[000584] В некоторых вариантах осуществления комплексы являются эффективными в лечении мышечной атрофии, ассоциированной с активностью одного или более генов, приведенных в таблице 7 в разделе "Гены-мишени мышечной атрофии". В некоторых вариантах осуществления мышечная атрофия возникает по причине

хронического заболевания, включая СПИД, застойную сердечную недостаточность, злокачественное новообразование, хроническую обструктивную болезнь легких и почечную недостаточность, или мышечного заболевания.

[000585] В других аспектах комплексы, содержащие антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, как представлено в настоящем описании, являются эффективными в лечении неврологического заболевания. В некоторых вариантах осуществления неврологическое заболевание включает, в качестве неограничивающих примеров, нейропатию, амилоидоз, злокачественное новообразование, ап-заболевание или нарушение глаз, вирусную или микробную инфекцию, воспаление, ишемию, нейродегенеративное заболевание, судороги, поведенческие нарушения и лизосомальную болезнь накопления. В целях по изобретению, термин "ЦНС" будет включать глаз, в норме секвестрированный от остального организма гематоретинальным барьером. Конкретные неограничивающие примеры неврологических нарушений включают нейродегенеративные заболевания (включая, в качестве неограничивающих примеров, болезнь телец Леви, постполиомиелитный синдром, синдром Шая-Дрейджера, оливопонтocerebellарную атрофию, болезнь Паркинсона, множественную системную атрофию, стриатонигральную дегенерацию, таупатии (включая, в качестве неограничивающих примеров, болезнь Альцгеймера и надъядерный паралич), прионные болезни (включая, в качестве неограничивающих примеров, губчатую энцефалопатию крупного рогатого скота, почесуху, болезнь Крейтцфельда-Якоба, куру, синдром Герстманна-Штреусслера-Шейнкера, хроническую изнуряющую болезнь и фатальную семейную бессонницу), бульбарный паралич, болезнь двигательных нейронов и гетеродегенеративные нарушения нервной системы (включая, в качестве неограничивающих примеров, болезнь Канавана, болезнь Гентингтона, нейрональный цероидный липофусциноз, болезнь Александера, синдром Туретта, болезнь Менкеса, синдром Коккейна, болезнь Галлервордена-Шпатца, болезнь Лафора, синдром Ретта, гепатолентикулярную дегенерацию, синдром Леша-Нихана и синдром Унферрихта Лундборга), деменцию (включая в качестве неограничивающих примеров, болезнь Пика и спиноцереbellарную атаксию), злокачественное новообразование (например, злокачественное новообразование ЦНС, включая метастазы в головном мозге, являющиеся результатом злокачественного новообразования где-либо в организме). В некоторых вариантах осуществления в случае лечения неврологического заболевания комплекс содержит антитело против TfR, представленное в настоящем описании, конъюгированное с лекарственным средством для лечения неврологического заболевания (например, лекарственные средства, приведенные в таблице 8).

[000586] В некоторых вариантах осуществления индивидуум может являться человеком, не являющимся человеком приматом, грызуном или любым подходящим млекопитающим. В некоторых вариантах осуществления индивидуум может иметь мышечное заболевание, приведенное в таблице 7. В некоторых вариантах осуществления индивидуум может иметь мышечную атрофию или риск ее развития.

[000587] Аспект настоящего изобретения включает способы, включающие введение индивидууму эффективного количества комплекса, представленного в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество фармацевтической композиции, содержащей комплекс, содержащий антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, можно вводить индивидууму, нуждающемуся в лечении. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая комплекс, представленный в настоящем описании, можно вводить подходящим путем, который может включать внутривенное введение, например, в виде болюса или посредством непрерывной инфузии в течение периода времени. В некоторых вариантах осуществления внутривенное введение можно осуществлять внутримышечным, интраперитонеальным, цереброспинальным, подкожным, внутрисуставным, интрасиновиальным или интратекальным путем. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция может находиться в твердой форме, водной форме или жидкой форме. В некоторых вариантах осуществления водную или жидкую форму можно подвергать небулизации или лиофилизации. В некоторых вариантах осуществления небулизированную или лиофилизированную форму можно восстанавливать водным или жидким раствором.

[000588] Композиции для внутривенного введения могут содержать различные носители, такие как растительные масла, диметилактамид, диметилформаид, этиллактат, этилкарбонат, изопропилмиристан, этанол и полиолы (глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и т.п.). В случае внутривенной инъекции водорастворимые антитела можно вводить капельным способом, посредством которого фармацевтический состав, содержащий антитело и физиологически приемлемые эксципиенты, подвергают инфузии. Физиологически приемлемые эксципиенты могут включать, например, 5% декстрозу, 0,9% физиологический раствор, раствор Рингера или другие подходящие эксципиенты. Внутримышечные препараты), например, стерильный состав подходящей растворимой солевой формы антитела, можно растворять и вводить в фармацевтическом эксципиенте, таком как вода для инъекций, 0,9% физиологический раствор или 5% раствор глюкозы.

[000589] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая комплекс, содержащий антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, вводят сайт-специфическими способами или способами локальной доставки. Примеры этих способов включают имплантируемые депо-источники комплекса, катетеры для локальной доставки, сайт-специфические носители, прямую инъекцию или прямое нанесение.

[000590] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая комплекс, содержащий антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, вводят в эффективной концентрации, обеспечивающий терапевтический эффект в отношении индивидуума. Как понятно специалистам в этой области, эффективные количества варьируются в зависимости от тяжести заболевания,

уникальных характеристик индивидуума, подвергаемого лечению, например, возраста, физического состояния, состояния здоровья или массы тела, длительности лечения, природы сопутствующей терапии, пути введения и связанных факторов. Эти связанные факторы известны специалистам в этой области, и их можно определять с использованием не более чем рутинного экспериментирования. В некоторых вариантах осуществления эффективная концентрация является максимальной дозой, считающейся безопасной для пациента. В некоторых вариантах осуществления эффективная концентрация будет являться наименьшей возможной концентрацией, обеспечивающей максимальную эффективность.

[000591] Эмпирические факторы, например, время полужизни комплекса в организме индивидуума, как правило, будут учитывать при определении концентрации фармацевтической композиции, используемой для лечения. Частоту введения можно определять эмпирически и корректировать для максимизации эффективности лечения.

[000592] Как правило, в случае введения любых из комплексов, представленных в настоящем описании, начальная доза может составлять приблизительно от 1 до 100 мг/кг или более в зависимости от описанных выше факторов, например, безопасности или эффективности. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство будут вводить однократно. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство будут вводить ежедневно, дважды в неделю, еженедельно, дважды в месяц, ежемесячно или через любой временной интервал, обеспечивающий максимальную эффективность при минимизации рисков в отношении безопасности в отношении индивидуума. Как правило, эффективность лечения и риски в отношении безопасности можно подвергать мониторингу на всем протяжении курса лечения.

[000593] Эффективность лечения можно оценивать любыми подходящими способами. В некоторых вариантах осуществления эффективность лечения можно оценивать посредством оценки наблюдения симптомов, ассоциированных с мышечным заболеванием и/или (например, и) мышечной атрофией.

[000594] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая комплекс, содержащий антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, представленной в настоящем описании, вводят индивидууму в эффективной концентрации, достаточной для ингибирования активности или экспрессии гена-мишени по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% относительно контроля, например, базового уровня экспрессии до лечения.

[0006595] В некоторых вариантах осуществления однократной дозы или введения индивидууму фармацевтической композиции, содержащей комплекс, содержащий антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, представленной в настоящем описании, достаточно для ингибирования активности или экспрессии гена-мишени в течение по меньшей мере 1-5, 1-10, 5-15, 10-20, 15-30, 20-40, 25-50 или более

дней. В некоторых вариантах осуществления однократной дозы или введения индивидууму фармацевтической композиции, содержащей комплекс, содержащий антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, представленной в настоящем описании, достаточно для ингибирования активности или экспрессии гена-мишени в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 недель. В некоторых вариантах осуществления однократной дозы или введения индивидууму фармацевтической композиции, содержащей комплекс, содержащий антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой, представленной в настоящем описании, достаточно для ингибирования активности или экспрессии гена-мишени в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или 6 месяцев.

[000696] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция может содержать более одного комплекса, содержащего антитело против TfR, ковалентно связанное с молекулярной нагрузкой. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция может дополнительно содержать любое другое подходящее терапевтическое средство для лечения индивидуума, например, человека, имеющего мышечное заболевание (например, мышечное заболевание, приведенное в таблице 7). В некоторых вариантах осуществления другие терапевтические средства могут усиливать или дополнять эффективность комплексов, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления другие терапевтические средства можно использовать для лечения иного симптома или заболевания, чем комплексы, представленные в настоящем описании.

с. Наборы для терапевтического и диагностического использования

[000597] Настоящее изобретение также относится к наборам для терапевтического и диагностического использования, как представлено в настоящем описании. Такие наборы могут включать один или более контейнеров, содержащих антитело против TfR, например, любое из антител, представленных в настоящем описании.

[000598] В некоторых вариантах осуществления набор может содержать инструкции по использованию любых из способов, представленных в настоящем описании. Включенные инструкции могут содержать описание введения антитела против TfR для лечения, задержки дебюта или облегчения целевого заболевания, как представлено в настоящем описании. Набор может дополнительно содержать описание выбора индивидуума, подходящего для лечения с учетом определения того, что этот индивидуум имеет целевое заболевание. В других вариантах осуществления инструкции содержат описание введения антитела индивидуумам, имеющим риск целевого заболевания.

[000599] Инструкции, касающиеся использования антитела против TfR, как правило, включают информацию о дозе, режиме введения и пути введения для предполагаемого лечения. Контейнеры могут включать однократные дозы, нерасфасованные упаковки (например, упаковки со множеством доз) или субоднократные дозы. Инструкции, поставляемые в наборах по изобретению, как правило, являются

письменными инструкциями на ярлыке или вкладыше в упаковку (например, бумажном листе, включенном в набор), но также возможны машиночитаемые инструкции (например, инструкции на магнитном или оптическом диске).

[000600] На ярлыке или вкладыше в упаковку указывают, что композицию используют для лечения, задержки дебюта и/или (например, и) облегчения заболевания или нарушения, которое можно лечить посредством модуляции иммунных ответов, таких как аутоиммунные заболевания. Инструкции можно предоставлять для практического осуществления любых из способов, представленных в настоящем описании.

[000601] Наборы по настоящему изобретению находятся в подходящей упаковке. Подходящая упаковка включает, в качестве неограничивающих примеров, флаконы, бутылки, банки, гибкую упаковку (например, запаиваемые майларовые или пластиковые пакеты) и т.п.

[000602] Также предусмотрена упаковка для использования в комбинации с конкретным устройством, таким как ингалятор, устройство для назального введения (например, атомайзер) или инфузионное устройство, такое как мининасос. Набор может иметь стерильное входное отверстие (например, контейнер может являться мешком для внутривенного раствора или флаконом, имеющим пробку, прокалываемую иглой для подкожных инъекций). Контейнер также может иметь стерильное входное отверстие (например, контейнер может являться мешком для внутривенного раствора или флаконом, имеющим пробку, прокалываемую иглой для подкожных инъекций). По меньшей мере одно активное средство в композиции является антителом против TfR, представленным в настоящем описании.

[000603] Наборы, необязательно, могут включать дополнительные компоненты, такие как буферы и информация для интерпретации. Как правило, набор содержит контейнер и ярлык или вкладыши в упаковку на контейнере или связанные с контейнером. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к промышленным изделиям, содержащим содержимое описанных выше наборов.

[000604] Настоящее изобретение также относится к наборам для использования в детекции рецептора трансферрина в образце. Такой набор может содержать любые из антител против TfR, представленных в настоящем описании. В некоторых случаях, антитело против TfR можно конъюгировать с детектируемой меткой, представленной в настоящем описании. В рамках изобретения, термин "конъюгированный" или "соединенный" означает, что два вещества связаны, предпочтительно, с достаточной аффинностью, таким образом, что получают терапевтическую/диагностическую пользу от связывания между двумя веществами. Связывание двух веществ может являться прямым или через линкер, такой как полимерный линкер. Термины "конъюгированный" или "соединенный" могут включать ковалентное или нековалентное связывание, а также другие формы связывания, такие как заключение, например, одного вещества на другом веществе или в нем или любого или обоих веществ на третьем веществе или в нем, таком как мицелла.

[000605] Альтернативно или дополнительно (например, дополнительно), набор может содержать вторичное антитело, способное связываться с антителом против TfR. Набор может дополнительно содержать инструкции по использованию антител против TfR для детекции рецептора трансферрина.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Скрининг антитела против TfR

[000606] Из мышей, иммунизированных доменом ECD TfR1 человека, идентифицировали всего 347 положительных клонов гибридом, как способных связываться с huTfR1, по результатам ELISA. Затем 347 антитела тестировали в нескольких анализах для выбора лучших кандидатов (например, см. фиг. 1). Например, в анализе ELISA, в котором тестировали связывание с супоTfR1, антитела, являющиеся несвязывающимися с супоTfR1 средствами, удаляли из совокупности кандидатов. Затем из совокупности кандидатов удаляли антитела, подвергнутые биннингу с известными антителами против TfR. Затем оставшиеся антитела тестировали в анализе ELISA на их способность связываться с huTfR2, и антитела, связывающиеся с huTfR2-связывающими средствами, удаляли из совокупности кандидатов. Затем в анализе FACS, в котором тестировали связывание с клетками HerG2 и CHO, из совокупности кандидатов удаляли антитела, неспецифически связывающиеся с клетками CHO. И наконец, в конкурентном анализе ELISA, в котором тестировали конкуренцию между антителами против TfR и трансферрином, из совокупности кандидатов удаляли антитела, конкурирующие и ингибирующие связывание трансферрина с TfR.

[000607] Примеры критериев селекции включают:

K_D приблизительно 60 пМ - приблизительно 20 нМ к TfR1 человека

K_D к TfR1 человека и TfR1 яванского макака в пределах 1 log

скорость K_{off} в пределах схожего диапазона K_D

Минимальные потенциальные участки дезамидирования, изомеризации или окисления

[000608] Эти фильтры позволяют селективно сужать 347 положительных клонов гибридом до приблизительно 90 клонов. Секвенировали примеры переменных доменов тяжелой цепи (VH) и переменных доменов легких цепей (VL), и последовательности приведены в таблице 1. Осуществляли анализ последовательности *in silico* для идентификации потенциальных участков модификаций или уязвимых остатков. Данные анализа кинетики связывания Carterra получали для определения скоростей K_d , K_{on} и K_{off} . Для выбранных клонов осуществляли перекрестное связывание друг с другом для помещения групп антител в бины с учетом их способности конкурировать друг с другом. Для идентификации любых консенсусных участков связывания осуществляли картирование линейных эпитопов.

[000609] Все эти данные комбинировали для получения 20 антител, охватывающих широкий диапазон аффинностей, для дальнейшего тестирования и конъюгации с

молекулярной нагрузкой выбирали разнообразный репертуар последовательностей и желаемые характеристики антитела.

[000610] Также картировали связывающие эпитопы на TfR1 человека для трех выбранных антител (3-A4, 3-M12 и 5-H12). Антитело 3-A4 связывается с эпитопом KGVERKT, соответствующим аминокислотам 90-96 TfR1 человека, приведенного в SEQ ID NO: 228. С учетом связывающегося эпитопа, ожидают, что антитело 3-A4 будет связываться с TfR1 даже при расщеплении внеклеточного домена TfR1. Не идентифицировали связывающие линейные эпитопы антитела 3-M12 или 5-H12, что свидетельствует о том, что связывание может являться конформационным.

Пример 2: Аффинность связывания антител против TfR1 с TfR1 человека

[000611] Выбранные антитела против TfR1 тестировали на аффинность связывания с TfR1 человека для измерения K_a (константы скорости ассоциации), K_d (константы скорости диссоциации) и K_D (аффинность). В качестве контроля использовали два известных антитела против TfR1, 15G11 и ОКТ9. Эксперимент по связыванию осуществляли с помощью Cytterra LSA при 25°C. Подготавливали "газон" антитела против IgG мыши и IgG человека на чипе HC30M посредством иммобилизации по аминогруппе. 59 IgG (58 mAb мыши и 1 mAb человека) захватывали на чипе. Серию разведений hTfR1, cyTfR1 и hTfR2 инъецировали на чип для связывания (начиная с 1000 нМ, разведение 1:3, 8 концентраций).

[000612] Данные по связыванию определяли путем вычитания ответов от инъекции буферного анализата и глобальной аппроксимации по модели связывания Ленгмюра 1:1 для оценки K_a (константы скорости ассоциации), K_d (константы скорости диссоциации) и K_D (аффинности) с использованием программного обеспечения Cytterra™ Kinetics. Для аппроксимации кривой использовали 5-6 концентраций.

[000613] Результаты свидетельствуют о том, что 54 из 56 mAb мыши демонстрировали связывание hTfR1 со значениями K_D в диапазоне от 13 пМ до 50 нМ. Большинство mAb мыши имело значения K_D в одноразрядном наномолярно-субнаномолярном диапазоне. Тестируемые mAb мыши демонстрировали перекрестно-реактивное связывание с cyTfR1 со значениями K_D в диапазоне от 16 пМ до 22 нМ.

[000614] Значения K_a , K_d и K_D антител против TfR1 приведены в таблице 9.

Таблица 9. Значения K_a , K_d и K_D антител против TfR1

Название	K_D (M)	K_a (M)	K_d (M)
ctrl-15G11	2,83E-10	3,70E+05	1,04E-04
ctrl-ОКТ9 mIgG	5,36E-10	7,74E+05	4,15E-04
3-A04	4,36E-10	4,47E+05	1,95E-04
3-M12	7,68E-10	1,66E+05	1,27E-04
5-H12	2,08E-07	6,67E+04	1,39E-02
10-H02	2,72E-09	1,26E+05	3,42E-04
10-P05	1,63E-09	1,70E+05	2,78E-04

2-H19	2,06E-09	2,22E+05	4,56E-04
3-E05	4,55E-10	2,20E+04	1,00E-05
3-F03	2,23E-09	1,38E+05	3,09E-04
3-M09	2,54E-09	1,50E+05	3,82E-04
3-P24	9,70E-10	6,72E+04	6,52E-05
4-C05	1,61E-09	3,01E+04	4,85E-05
4-H04	1,39E-08	6,17E+04	8,57E-04
4-O12	1,80E-09	7,98E+04	1,43E-04
6-D03	9,86E-10	1,08E+05	1,07E-04
8-D15	8,22E-09	3,13E+04	2,57E-04
8-K06	6,94E-11	1,44E+05	1,00E-05
8-O17	1,83E-09	4,99E+04	9,12E-05
9-C04	1,41E-08	4,10E+04	5,75E-04
9-D04	5,86E-09	4,20E+04	2,46E-04
9-K23	4,01E-10	5,40E+04	2,17E-05

Пример 3: Конъюгация антител против TfR1 с олигонуклеотидами

[000615] Получали комплексы, содержащие антитело против TfR1, ковалентно конъюгированное с антисмысловым олигонуклеотидом (ASO), нацеленным на DMPK (контрольным DMPK-ASO). Сначала Fab'-фрагменты антитела против TfR клонов 3-A4, 3-M12, 5-H12, 8-K6, 9-K23, 3-E5, 6-D3, 4-O12, 4-C5, 10-P5, 2-H19, 3-F3, 8-O17, 3-M9, 10-H2, 4-J22, 9-D4, 8-D15, 4-H4 и 9-C4 получали посредством расщепления моноклональных антител мыши ферментом в шарнирной области или ниже шарнирной области полного IgG с последующим частичным восстановлением. Подтверждали, что Fab' были сравнимы с mAb по авидности или аффинности.

[000616] Мышечно-специфические комплексы получали посредством ковалентного связывания mAb против TfR с ASO, нацеленным на DMPK, через катепсин-расщепляемый линкер. В кратком изложении, молекулу линкера бицикло[6.1.0]нонин-PEG3-L-валин-L-цитруллин-пентафторфенилового сложного эфира (BCN-PEG3-Val-Cit-PFP) соединяли с ASO, нацеленным на DMPK, с помощью карбаматной связи. Избыток линкера и органические растворители удаляли посредством тангенциальной поточной фильтрации (TFF). Затем очищенный Val-Cit-линкер-ASO связывали с азид-функционализированным антителом против рецептора трансферрина, полученным посредством модификации ε-амин на лизине с помощью азид-PEG4-PFP. Мышечно-специфический комплекс положительного контроля также получали с использованием 15G11.

[000617] Затем продукт реакции сопряжения антитела подвергали двум способам очистки для удаления свободного антитела и свободной нагрузки: 1) хроматография

гидрофобных взаимодействий (НИС-ВЭЖХ) и 2) эксклюзионная хроматография (SEC). В колонке НИС использовали снижающийся градиент соли для отделения свободного антитела от конъюгата. Во время SEC осуществляли фракционирование с учетом кривых A260/A280 для специфического сбора конъюгированного материала. Концентрации конъюгатов определяли с помощью Nanodrop A280 или анализа белка BCA (для антитела) и анализа Quant-It Ribogreen (для нагрузки). Вычисляли соответствующий соотношения лекарственное средство-антитело (DAR). DAR находились в диапазоне от 0,8 до 2,0, и их стандартизировали так, что все образцы получали равное количество нагрузки.

[000618] Затем очищенные комплексы тестировали на клеточную интернализацию и ингибирование DMPK. Клетки не являющегося человеком примата (NHP) или клетки DM1 (полученные от пациентов с DM1) выращивали в 96-луночных планшетах, и они дифференцировались в мышечные трубочки в течение 7 дней. Затем клетки обрабатывали увеличивающимися концентрациями (0,5 нМ, 5 нМ, 50 нМ) каждого комплекса в течение 72 часов. Клетки собирали, выделяли РНК и осуществляли обратную транскрипцию для получения кДНК. qPCR осуществляли с использованием наборов TaqMan, специфических для Prib (контроль) и DMPK, с помощью QuantStudio 7. Вычисляли относительные количества оставшегося транскрипта DMPK в обработанных и необработанных клетках, и результаты приведены в таблице 10 и на фиг. 3.

[000619] Результаты свидетельствовали о том, что антитела против TfR1 способны к таргетингу мышечных клеток, интернализации мышечными клетками с молекулярной нагрузкой (DMPK-ASO), и что молекулярная нагрузка (DMPK ASO) способна к таргетингу и нокдауну гена-мишени (DMPK).

Таблица 10. Аффинность связывания антител против TfR1 и эффективность конъюгатов

Название клона	Средняя K_D huTfR1 (М) (антитело в отдельности)	Средняя K_D cyTfR1 (М) (антитело в отдельности)	% нокдауна DMPK в клетках NHP с использование м конъюгата антитело- DMPK ASO	% нокдауна DMPK в клетках людей- пациентов с DM1 с использование м конъюгата антитело- DMPK ASO
15G11 (контроль)	8,0E-10	1,0E-09	36	46
3-A4	4,36E-10	2,32E-09	77	70
3-M12	7,68E-10	5,18E-09	77	52

5-H12	2,02316E-07	1,20E-08	88	57
8-K6	6,78121E-11	3,76E-10	73	34
9-K23	3,19783E-10	6,62E-10	47	-4
3-E5	4,55E-10	6,71E-10	59	71
6-D3	9,86E-10	7,78E-10	-8	-5
4-O12	1,27416E-09	2,70E-07	-16	10
4-C5	1,38324E-09	1,36E-08	-20	35
10-P5	1,63E-09	1,10E-08	58	55
2-H19	2,06E-09	5,75E-09	39	24
3-F3	2,23E-09	1,84E-08	-15	20
8-O17	2,24245E-09	1,10E-09	26	41
3-M9	2,50135E-09	4,37E-09	52	39
10-H2	2,72E-09	1,24E-08	2	16
4-J22	3,41E-09	1,37E-09	7	57
9-D4	5,79556E-09	8,68E-10	42	62
8-D15	9,15057E-09	1,11E-08	*	*
4-H4	1,39E-08	2,18E-08	*	*
9-C4	1,47657E-08	1,20E-08	*	*

* очень низкий выход экспрессии/конъюгации

[000620] Примечательно, что результаты нокдауна DMPK свидетельствовали об отсутствии корреляции между аффинностью связывания антитела против TfR с рецептором трансферрина и эффективностью доставки DMPK ASO в клетки для нокдауна DMPK. Неожиданно, антитела против TfR, представленные в настоящем описании (например, по меньшей мере 3-A4, 3-M12, 5-H12, 8-K6, 3-E5, 10-P5, 3-M9 и 9-D4), демонстрировали превосходную активность при доставке нагрузки (например, DMPK ASO) в клетки-мишени и достижении биологического эффекта молекулярной нагрузки (например, нокдаун DMPK) в клетках яванского макака или клетках людей-пациентов с DM1 по сравнению с контрольным антителом 15G11, несмотря на сравнимую аффинность связывания (или, в некоторых случаях, таким как 5-H12, с более низкой аффинностью связывания) с рецептором трансферрина человека или яванского макака между этими антителами и контрольным антителом 15G11.

[000621] Для выбора клонов для гуманизации рассматривали лучшие характеристики, такие как высокая аффинность к huTfR1, >50% нокдауна DMPK в линиях клеток NHP и пациентов с DM1, идентифицированное связывание эпитопов с 3 уникальными последовательностями, низкое количество/отсутствие прогнозируемых участков РТМ и хорошая экспрессия и эффективность конъюгации.

Пример 4: Структурно-функциональная взаимосвязь (SAR) антител против Tfr

[000622] Анализ структурно-функциональной взаимосвязи (SAR) осуществляли для определения консенсусных последовательностей в CDR и/или (например, и) каркасной области. Анализ показал, что 3-A4 имеет те же CDR тяжелой цепи и легкой цепи, что и 9-B22, и отличается от 9-B22 одной аминокислотой в каркасной области тяжелой цепи в положении 64 (V в 3-A4 и M в 9-B22).

[000623] В случае антитеа 3-M12 идентифицировали антитела, имеющие схожие последовательности CDR тяжелой цепи и/или (например, и) легкой цепи, включая 10C21, 10-K10, 1-I02, 6-B10 и 9-I3. Соответствующие CDR приведены в таблице 11 ниже. 5-H12 обладает уникальными последовательностями CDR тяжелой и легкой цепи, и в анализе не идентифицировали какие-либо другие антитела, имеющие схожие последовательности.

Таблица 11. Анализ SAR 3-M12

Клон	Аффинность к huTfr1	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
3M12	768 pM	GYSITS GYY (SEQ ID NO: 9)	ITFDGAN (SEQ ID NO: 10)	TRSSYD YDVLD Y (SEQ ID NO: 11)	QDISNF (SEQ ID NO: 12)	YTS (SEQ ID NO: 13)	QQGHTLP YT (SEQ ID NO: 14)
10C21	NA	GYTFTD YG (SEQ ID NO: 261)	IYPSSGN T (SEQ ID NO: 263)	ARSNY YGSPID F (SEQ ID NO: 266)	QDISNC (SEQ ID NO: 278)	YTS (SEQ ID NO: 13)	QQGNTLP WT (SEQ ID NO: 282)
10K10	21 nM	GYSITS GYY (SEQ ID NO: 9)	INFDGNN (SEQ ID NO: 264)	ARFYD DYDYF DY (SEQ ID NO: 267)	QDISNC (SEQ ID NO: 278)	YTS (SEQ ID NO: 13)	QQGNTLP WT (SEQ ID NO: 282)
1I02	67 pM	GYSITS GYY (SEQ ID NO: 9)	INFDGNN (SEQ ID NO: 264)	ARIYYD YDYFD Y (SEQ ID NO: 268)	QDISNS (SEQ ID NO: 279)	YTS (SEQ ID NO: 13)	QQGNTLP FT (SEQ ID NO: 283)

6B10	287 pM	GYSITS GYY (SEQ ID NO: 9)	INFDGNS (SEQ ID NO: 265)	TRSSYD YDVLD Y (SEQ ID NO: 11)	QDITNF (SEQ ID NO: 280)	YTS (SEQ ID NO: 13)	QQGNTLP YT (SEQ ID NO: 284)
9I3	2,4 нМ	GFSITSG YY (SEQ ID NO: 262)	INFDGNN (SEQ ID NO: 264)	ARSFY DYDVL DY (SEQ ID NO: 277)	QDISNY (SEQ ID NO: 281)	YTS (SEQ ID NO: 13)	QQGHAYP YT (SEQ ID NO: 285)

Пример 3. Стабильность линкера, связывающего антитело против TfR и молекулярную нагрузку, в сыворотке

[000624] Олигонуклеотиды, связанные с антителами, в примерах конъюгировали через расщепляемый линкер, показанный в формуле (C). Важно, что линкер поддерживает стабильность в сыворотке и обеспечивает кинетику высвобождения, способствующую достаточному накоплению нагрузки в целевой мышечной клетке. Эта стабильность в сыворотке важна для системного внутривенного введения, стабильности конъюгированного олигонуклеотида в кровотоке, доставки в мышечную ткань и интернализацию терапевтической нагрузки в мышечных клетках. Подтверждено, что линкер облегчает точную конъюгацию множества типов нагрузок (включая ASO, миРНК и РМО) с Fab. Эта гибкость делает возможным рациональный выбор подходящего типа нагрузки для соответствия генетической основе каждого мышечного заболевания. Кроме того, линкер и реакция конъюгации делают возможной оптимизацию соотношения молекул нагрузки, присоединенных к каждому Fab для каждого типа нагрузки, и быстрый дизайн, производство и скрининг молекул для использования при различных мышечных заболеваниях.

[000625] На фиг. 4 показана стабильность линкера в сыворотке *in vivo*, сравнивая между разными биологическими видами в течение 72 часов после внутривенного введения. В каждом случае измеряли по меньшей мере 75% стабильности через 72 часа после введения.

Материалы и способы

Способ ELISA Hu/сyноTfR1

[000626] Флакон 20 мкг с рекомбинантным huTfR1 или сyноTFR1 разводили 10 мл PBS. Черный, плоскодонный, 96-луночный планшет с высокой степенью связывания (Corning, кат. № 3925) покрывали 100 мкл/лунку рекомбинантного huTfR1 или сyноTfR1 в количестве 1 мкг/мл а PBS и оставляли на ночь при 4°C. После покрывания жидкость вытряхивали и осторожно накладывали безворсовые салфетки для удаления остаточной жидкости. Лиофилизированный BSA растворяли в количестве 10 мг/мл для получения

раствора 1% масс./об., а затем в каждую лунку с помощью многоканальной пипетки добавляли 200 мкл 1% BSA (масс./масс.) в PBS. Блокированию позволяли происходить в течение 2 часов при RT на шейкере при 300 об/мин. 20-кратный раствор TBST (Thermo, кат. №J77500-K2) разводили в воде без нуклеаз. После блокирования жидкость вытряхивали и планшет 3 раза промывали 300 мкл TBST. В ряд А добавляли серийное разведение антител против TfR1 в 0,5% BSA/TBST в трех параллелях с 8 точками серийного разведения в формате столбцов. В планшет включали положительный контроль и изотипический контроль. Диапазон разведения составлял от 5 мкг/мл до 5 нг/мл. Планшет держали при комнатной температуре на орбитальном шейкере в течение 60 минут при 300 об./мин. Затем жидкость вытряхивали и планшет 3 раза промывали 300 мкл TBST. Антитело против (H+L)IgG-A488 (1:500) (Invitrogen, кат. № A11013) разводили в 0,5% BSA в TBST и добавляли 100 мкл на лунку. Затем планшет инкубировали в течение 60 минут при комнатной температуре и 300 об./мин. на орбитальном шейкере. Затем жидкость вытряхивали и планшет 4 раза промывали 300 мкл TBST. Планшет считывали с помощью спектрофотометр для чтения планшетов Spectramax с возбуждением при 495 нм, испусканием при 520 нм (ширина полосы 15 нм). Данные регистрировали в виде файла Excel и анализировали с помощью Prism для вычисления EC₅₀ и логарифмических кривых.

Конкурентные анализы TfN

[000627] Анализ ELISA блокирования Ab связывания TfN или HFE с TfR1 осуществляли двумя способами. Буферы, используемые в обоих способах, включают промывочный буфер: содержащий 1-кратный PBS, дополненный 0,05% Tween-20, и блокирующий буфер: содержащий 1-кратный PBS, дополненный 3% BSA.

Способ 1

[000628] Рекомбинантный очищенный белок TfR1-HIS разводили до 1 мкг/мл 1-кратным PBS и аликвотировали по 10 мкл в каждую лунку. Затем планшеты закрывали, инкубировали при 4°C в течение ночи (от 12 до 20 часов) таким образом, что планшеты покрывали белком TfR1. После покрывания в течение ночи, планшеты промывали 2 раза промывочным буфером. Оставшийся промывочный буфер выбрасывали. Лунки инкубировали с блокирующим буфером (55 мкл) при комнатной температуре (RT) в течение 1 часа. В конце блокирования блокирующий раствор выбрасывали. Планшеты промывали 2 раза промывочным буфером. Затем антитела предварительно промывали белок-связывающими партнерами. Предварительная смесь А: контрольные антитела (20 мкг/мл, 2-кратные) смешивали с 200 нМ TfN (2-кратными) или 200 нМ HFE-HIS (2-кратными). Предварительная смесь В: насыщенные супернатанты смешивали с 200 нМ TfN (2-кратным) или 200 нМ HFE-HIS (2-кратным). В лунки добавляли предварительную смесь А или предварительную смесь В (20 мкл), которые затем инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре.

[000629] После инкубации супернатант выбрасывали и планшеты промывали 4 раза промывочным буфером. Лунки инкубировали с HRP-конъюгированным антителом

против IgG мыши или HRP-конъюгированным антителом против IgG человека (разведение 1:7000; 20 мкл/лунку) при комнатной температуре в течение 45 минут.

[000630] Раствор хемилюминесцентного субстрата SuperSignal ELISA Pico подготавливали посредством предварительного смешивания раствора пероксидазы с раствором усилителя люминола в виде раствора 1:1. Смесь разводили 1-кратным PBS до 50%.

[000631] После 45 минут инкубации каждый планшет промывали 4 раза с использованием 1-кратного промывочного буфера. Планшет вращали на 180 градусов и промывали еще 4 раза. В каждую лунку добавляли предварительно смешанный раствор субстрата SuperSignal ELISA Pico (20 мкл). Планшет считывали с помощью люминометра MolecuLar Devices SpectraMax M3 и Softmax Pro версии 6.2 в пределах 15 минут после добавления субстрата.

Способ 2

[000632] Сток белка Tfn раморазивали и разводили 1-кратным PBS до 2 мкг/мл. В каждую лунку добавляли 10 мкл. Каждый планшет закрывали и инкубировали при 4°C в течение ночи (от 12 до 20 часов).

[000633] После покрывания в течение ночи планшеты промывали 2 раза промывочным буфером. Оставшийся промывочный буфер выбрасывали. Лунки инкубировали с блокирующим буфером (55 мкл). при комнатной температуре (RT) в течение 1 часа. В конце блокирования блокирующий раствор выбрасывали. Планшеты промывали 2 раза промывочным буфером. Антитела предварительно смешивали с белок-связывающими партнерами. Предварительная смесь С: контрольные антитела (20 мкг/мл, 2-кратные) смешивали с 30,8 мкг/мл Tfr1 (2-кратным). Предварительная смесь D: насыщенные супернатанты смешивали с 30,8 мкг/мл Tfr1 (2-кратным). В лунки добавляли предварительную смесь С или предварительную смесь D (20 мкл), которые затем инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре.

[000634] Супернатант выбрасывали. Планшеты промывали 4 раза промывочным буфером. Лунки инкубировали с 1 мкг/мл биотин-MD10 (20 мкл/лунку) при комнатной температуре в течение 45 минут. Планшеты промывали 4 раза промывочным буфером. Лунки инкубировали с 1 мкг/мл стрептавидин-HRP (20 мкл/лунку) при комнатной температуре в течение 45 минут.

[000635] Раствор хемилюминесцентного субстрата SuperSignal ELISA Pico подготавливали посредством предварительного смешивания раствора пероксидазы с раствором усилителя люминола в виде раствора 1:1. Смесь разводили 1-кратным PBS до 50%.

[000636] После 45 минут инкубации каждый планшет промывали 4 раза с использованием 1-кратного промывочного буфера. Планшет вращали на 180 градусов и промывали еще 4 раза. В каждую лунку добавляли предварительно смешанный раствор субстрата SuperSignal ELISA Pico (20 мкл). Планшет считывали с помощью люминометра

MolecuLar Devices SpectraMax M3 и Softmax Pro версии 6.2 в пределах 15 минут после добавления субстрата.

Обратная транскрипция и qPCR

[000637] **Способ (синтез первой цепи SuperScript IV):**

1. Размораживают все необходимые реагенты из набора на льду.

Примечание: Не удалять SuperScript IV RT из -20, пока не потребуется.

2. Комбинируют компоненты мастер-микса 1 в пробирке/лунке без нуклеаз:

Компонент	Количество реакций	
	1-кратный (мкл)	70
50 нг/мкл случайных гексамеров	0,5	38,5
10 mM смеси dNTP (10 mM каждого)	0,5	38,5
Матрица РНК	До 6,5 мкл	N/A
DEPC-обработанная вода	Конечный объем 6,5 мкл	N/A

3. Быстро смешивают посредством пипетирования, затем центрифугируют для сбора содержимого со дна лунок.

4. Нагревают раствор мастер-микса 1::РНК при 65°C в течение 5 минут, затем инкубируют на льду в течение по меньшей мере 1,5 минут.

5. Обрабатывают на центрифуге типа вортекс и центрифугируют 5-кратный буфер SSIV.

6. Комбинируют компоненты мастер-микса 2 в пробирке/лунке без нуклеаз:

Компонент	1-кратный (мкл)	70
5-кратный буфер SSIV	2	154
100 mM DTT	0,5	38,5
Ингибитор рибонуклеаз	0,5	38,5
SuperScript IV RT (200 ед./мкл)	0,5	38,5

7. Смешивают посредством пипетирования.

8. Добавляют 7 мкл мастер-микса 2 в реакционную смесь подвергнутой отжигу РНК.

9. Включают термоциклер и запускают программу RT:

Стадия	Температура (°C)	Время (мин)
Обратная транскрипция (удержание)	23	10
Инактивация RT (удержание)	55	10
Хранение	80	10

10. Хранение кДНК до qPCR.

Способ (qPCR):

1. Определение количества реакций, необходимого для каждого набора TaqMan:

Набор	Количество образцов
-------	---------------------

Ppib	75
Dmpk	75

2. Получают мастер-миксы для реакций:

Ppib		
Компонент	Объем реакции плюс среднее) (4)	Необходимый объем
Мастер-микс TaqMan Gene EXpression (2-кратный)	50	3750
Аналитическая смесь TaqMan Gene EXpression (60-кратная)	1,7	127,5
Аналитическая смесь TaqMan Gene EXpression (60-кратная)	1,7	127,5
Матрица кДНК	5	
H ₂ O	41,6	3120

3. Мастер-миксы аликвотируют в лунки 96-луночного планшета, как указано на схеме планшета.

4. В лунки добавляют кДНК/H₂O, как указано на схеме планшета.

5. Герметично закрывают 96-луночный планшет клейкой крышкой.

6. Смешивают кДНК и мастер-миксы с помощью центрифуги типа вортекс.

7. Быстро центрифугируют 96-луночный планшет, чтобы вся жидкость находилась на дне каждой лунки.

8. Аликвотируют содержимое 96-луночного планшета в 384-луночный планшет (20 мкл) с использованием 12-канальной микропипетки.

9. Осуществляют анализ qPCR с использованием QuantStudio 7 (требуется бронирование).

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

1. Антитело, связывающееся с рецептором трансферрина человека (TfR), где антитело содержит:

(i) определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (CDR-H1), определяющую комплементарность область тяжелой цепи 2 (CDR-H2) и определяющую комплементарность область тяжелой цепи 3 (CDR-H3) вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и/или

(ii) определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (CDR-L1), определяющую комплементарность область легкой цепи 2 (CDR-L2) и определяющую комплементарность область легкой цепи 3 (CDR-L3) вариабельной области легкой цепи (VL), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

2. Антитело по варианту осуществления 1, где антитело содержит:

(i) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 1, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 2, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 3; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 4, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6;

(ii) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 145, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 146, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 147; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 148, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 149, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6; или

(iii) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 150, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 151, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 152; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 153, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 154.

3. Антитело, связывающееся с рецептором трансферрина человека (TfR), где антитело содержит:

(i) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 1, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 233 или SEQ ID NO: 80, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 3; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 4, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6;

(ii) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 145, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 234 или SEQ ID NO: 236, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 147; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 148, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 149, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6; или

(iii) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 150, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 277 или SEQ ID NO: 278, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 152; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 153, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 5, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 154.

4. Антитело по любому из вариантов осуществления 1-3, где антитело содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 7, и/или VL, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 8.

5. Антитело, связывающееся с рецептором трансферрина человека (TfR), где антитело содержит:

(i) определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (CDR-H1), определяющую комплементарность область тяжелой цепи 2 (CDR-H2) и определяющую комплементарность область тяжелой цепи 3 (CDR-H3) переменной области тяжелой цепи (VH), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; и/или

(ii) определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (CDR-L1), определяющую комплементарность область легкой цепи 2 (CDR-L2) и определяющую комплементарность область легкой цепи 3 (CDR-L3) переменной области легкой цепи (VL), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16.

6. Антитело по варианту осуществления 5, где антитело содержит:

(i) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 9, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 10, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 11; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 12, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 13, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 14;

(ii) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 155, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 156, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 157; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 158, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 159, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 14; или

(iii) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 160, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 161, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 162; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 163, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 13, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 164.

7. Антитело по варианту осуществления 5 или варианту осуществления 6, где антитело содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 15, и/или VL, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 16.

8. Антитело, связывающееся с рецептором трансферрина человека (TfR), где антитело содержит:

(i) определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (CDR-H1), определяющую комплементарность область тяжелой цепи 2 (CDR-H2) и определяющую комплементарность область тяжелой цепи 3 (CDR-H3) вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23; и/или

(ii) определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (CDR-L1), определяющую комплементарность область легкой цепи 2 (CDR-L2) и определяющую комплементарность область легкой цепи 3 (CDR-L3) вариабельной области легкой цепи (VL), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24.

9. Антитело по варианту осуществления 8, где антитело содержит:

(i) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 17, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 18, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 19; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 20, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22;

(ii) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 165, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 166, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 167; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 168, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 169, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22; или

(iii) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 170, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 171, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 172; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 173, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 174.

10. Антитело, связывающееся с рецептором трансферрина человека (TfR), где антитело содержит:

(i) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 237 или SEQ ID NO: 239, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 18, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 19; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 20, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 21, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22; или

(ii) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 238 или SEQ ID NO: 240, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 166, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 167; и/или CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 168, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 169, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22.

11. Антитело по любому из вариантов осуществления 8-10, где антитело содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 23, и/или VL, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 24.

12. Антитело по любому из вариантов осуществления 1-11, где антитело является гуманизированным антителом.

13. Антитело по варианту осуществления 10, где гуманизированное антитело содержит гуманизированный VH и/или гуманизированный VL.

14. Антитело по любому из вариантов осуществления 1-13, где антитело выбрано из группы, состоящей из полноразмерного IgG, Fab-фрагмента, F(ab')-фрагмента, F(ab')₂-фрагмента, scFv и Fv.

15. Антитело по варианту осуществления 14, где антитело является полноразмерным IgG.

16. Антитело по варианту осуществления 15, где антитело содержит константную область тяжелой цепи изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

17. Антитело по варианту осуществления 16, где антитело содержит константную область тяжелой цепи изотипа IgG1, приведенную в SEQ ID NO: 175 или SEQ ID NO: 176.

18. Антитело по любому из вариантов осуществления 15-17, где антитело содержит:

(i) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 178, и/или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 179;

(ii) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 180, и/или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 181; или

(iii) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 182, и/или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 183.

19. Антитело по варианту осуществления 14, где антитело является F(ab')-фрагментом.

20. Антитело по варианту осуществления 19, где антитело содержит:

(i) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 185, и/или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 179;

(ii) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 186, и/или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 181; или

(iii) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 187, и/или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 183.

21. Антитело, связывающееся с рецептором трансферрина человека (TfR), где антитело содержит: CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, в совокупности содержащие не более 10 изменений аминокислот, предпочтительно - не более 8 изменений аминокислот, и более предпочтительно - не более 5 изменений аминокислот, по сравнению с CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 любого из антител, приведенных в таблице 1; и/или где антитело содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, в совокупности содержащие не более 10 изменений аминокислот, предпочтительно - не более 8 изменений аминокислот, по сравнению с CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 любого из антител, приведенных в таблице 1 или таблице 3.

22. Антитело, связывающееся с рецептором трансферрина человека (TfR), где антитело содержит: CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 любого из антител, приведенных в таблице 1; и/или где антитело содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, любого из антител, приведенных в таблице 1 или таблице 3.

23. Антитело, связывающееся с рецептором трансферрина человека (TfR), где антитело содержит:

CDR-H1, приведенную как GYSITSGYX₁ (SEQ ID NO: 286), в которой X₁ может являться Y или G;

CDR-H2, приведенную как IX₂FDGX₃X₄ (SEQ ID NO: 287), в которой X₂ может являться T или N, X₃ может являться A или N, и X₄ может являться N, T или S;

CDR-H3, приведенную как X₅RX₆X₇YDYDX₈X₉DX₁₀ (SEQ ID NO: 288), где X₅ является T или A, X₆ является S, F или I, X₇ является S, N или Y, X₈ является P, Y или V, X₉ является I, F или L, и X₁₀ является Y или F; и/или

CDR-L1, приведенную как QDIX₁₁NX₁₂ (SEQ ID NO: 289), в которой X₁₁ является S или T, и X₁₂ является F, C, S или Y;

CDR-L2, приведенную как YTS (SEQ ID NO: 13);

и CDR-L3, приведенную как QQG_{X13}X₁₄X₁₅PX₁₆T (SEQ ID NO: 290), в которой X₁₃ является H или N, X₁₄ является T или A, X₁₅ является L или Y, и X₁₆ является Y, W или F.

24. Антитело по любому из вариантов осуществления 1-21, где антитело связывается с рецептор трансферрина 1 (TfR1) с K_D менее 10^{-9} M.

25. Нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из вариантов осуществления 1-24.

26. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по варианту осуществления 25.

27. Клетка, содержащая вектор по варианту осуществления 26.

28. Способ получения антитела против TfR1, включающий культивирование клетки по варианту осуществления 27 в условиях, подходящих для экспрессии антитела.

29. Комплекс, содержащий антитело по любому из вариантов осуществления 1-23, ковалентно связанный с молекулярной нагрузкой.

30. Комплекс по варианту осуществления 29, где молекулярная нагрузка является диагностическим средством или терапевтическим средством.

31. Комплекс по варианту осуществления 29, где молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом, полипептидом или низкомолекулярным соединением.

32. Комплекс по любому из вариантов осуществления 29-31, где антитело и молекулярная нагрузка связаны через линкер.

33. Комплекс по варианту осуществления 32, где линкер является обратимым линкером.

34. Комплекс по варианту осуществления 33, где линкер является линкером val-Cit.

35. Композиция, содержащая антитело по любому из вариантов осуществления 1-23, нуклеиновую кислоту по варианту осуществления 25, вектор по варианту осуществления 26 или комплекс по любому из вариантов осуществления 26-31.

36. Композиция по варианту осуществления 32, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель.

37. Способ детекции рецептора трансферрина в биологическом образце, включающий приведение антитела по любому из вариантов осуществления 1-23 в контакт с биологическим образцом и измерение связывания антитела с биологическим образцом.

38. Способ по варианту осуществления 37, где антитело ковалентно связано с диагностическим средством.

39. Способ по варианту осуществления 38, где биологический образец получают из человека, как предполагают, имеющего или имеющего риск развития заболевания, ассоциированного с рецептором трансферрина.

40. Способ по варианту осуществления 39, где стадию приведения в контакт осуществляют посредством введения индивидууму эффективного количества антитела против TfR.

41. Способ доставки молекулярной нагрузки в клетку, включающий приведения комплекса по любому из вариантов осуществления 29-34 в контакт с клеткой.

42. Способ по варианту осуществления 41, где клетка является мышечной клеткой.

43. Способ по варианту осуществления 41 или варианту осуществления 42, где клетка находится *in vitro*.

44. Способ по варианту осуществления 43, где клетка находится в организме индивидуума.

45. Способ по варианту осуществления 44, где индивидуум является человеком.

46. Способ доставки молекулярной нагрузки в головной мозг или мышцу индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества комплекса по любому из вариантов осуществления 29-34.

47. Способ по варианту осуществления 46, где введение является внутривенным.

48. Способ лечения заболевания, включающий введение индивидууму эффективного количества комплекса по любому из вариантов осуществления 29-34, где молекулярная нагрузка является терапевтическим средством.

49. Способ по варианту осуществления 48, где заболевание является неврологическим заболеванием, и молекулярная нагрузка является лекарственным средством для лечения неврологического заболевания.

50. Способ по варианту осуществления 48, где заболевание является мышечным заболеванием, и молекулярная нагрузка является лекарственным средством для лечения мышечного заболевания.

51. Способ по варианту осуществления 50, где мышечное заболевание является редким мышечным заболеванием или мышечной атрофией.

ЭКВИВАЛЕНТЫ И ТЕРМИНОЛОГИЯ

[000638] Настоящее изобретение, иллюстративно представленное в настоящем описании, соответствующим образом можно осуществлять на практике в отсутствие любого элемента или элементов, ограничения или ограничений, конкретно не представленных в настоящем описании. Таким образом, например, в каждом случае в настоящем описании любой из терминов "содержащий", "состоящий, по существу, из" и "состоящий из" можно заменять любым из других двух терминов. Используемые термины и выражения используют в качестве описательных терминов, а не ограничивающих, и в использовании таких терминов и выражений нет намерений исключить любые эквиваленты, приведенные и описанные признаки или их части, но известно, что в объеме настоящего изобретения возможны различные модификации. Таким образом, следует понимать, что, хотя настоящее изобретение конкретно описано с помощью предпочтительных вариантов осуществления, специалисты в этой области могут определять необязательные признаки, модификации и варианты концепций, представленных в настоящем описании, и что такие модификации и варианты считают входящими в объем настоящего изобретения.

[000639] Кроме того, если признаки или аспекты настоящего изобретения описаны в терминах групп Маркуша или другой группировки альтернатив, специалистам в этой области понятно, что изобретение, таким образом, также описано в терминах любого отдельного члена, или подгруппы членов группы Маркуша, или другой группы.

[000640] Следует понимать, что в некоторых вариантах осуществления последовательности, приведенные в списке последовательностей, могут относиться к описанию структуры олигонуклеотида или другой нуклеиновой кислоты. В таких вариантах осуществления конкретный олигонуклеотид или другая нуклеиновая кислота может содержать один или более альтернативных нуклеотидов (например, РНК, соответствующей нуклеотиду ДНК, или ДНК, соответствующей нуклеотиду РНК), и/или (например, и) один или более модифицированных нуклеотидов, и/или (например, и) одну или более модифицированных межнуклеотидных связей, и/или (например, и) одну или более других модификаций по сравнению с определенной последовательностью при сохранении, по существу, тех же или схожих комплементарных свойств, что и определенная последовательность.

[000641] Использование терминов в единственном числе в отношении описания изобретения (особенно в отношении формулы изобретения) следует истолковывать как охватывающее единственное и множественное число, если иное не указано в настоящем описании или это ясно не противоречит контексту. Термины "содержащий", "имеющий", "включающий" следует истолковывать как неограничивающие термины (т.е. означающие "включающий в качестве неограничивающих примеров"), если не указано иначе. Перечисление диапазонов значений в настоящем описании является исключительно способом сокращенной записи со ссылкой индивидуально на каждое отдельное значение, попадающее в диапазон, если в настоящем описании не указано иначе, и каждое отдельное значение включено в описание так, как если бы оно было отдельно приведено в настоящем описании. Все способы, представленные в настоящем описании, можно осуществлять в любом подходящем порядке, если не указано иначе в настоящем описании или это четко не противоречит контексту. Использование любых и всех примеров или вводных слов перед примерами (например, "таких как"), представленных в настоящем описании, предназначено исключительно для лучшего иллюстрирования настоящего изобретения, а не для ограничения объема изобретения, если не указано иначе. Никакие термины в описании не следует истолковывать как указывающие на любой незаявленный элемент как необходимый для практического осуществления изобретения.

[000642] Варианты осуществления настоящего изобретения представлены в настоящем описании. Варианты этих вариантов осуществления могут становиться очевидными специалистам в этой области после прочтения изложенного выше описания.

[000643] Авторы настоящего изобретения ожидают, что специалисты в этой области будут использовать такие варианты при необходимости, и авторы настоящего изобретения предполагают, что изобретение будут осуществлять на практике иначе, чем конкретно представлено в настоящем описании. Таким образом, настоящее изобретение включает все модификации и эквиваленты объектов изобретения, описанных в формуле изобретения в соответствии с действующим законодательством. Кроме того, изобретение включает любую комбинацию описанных выше элементов во всех возможных вариантах, если в настоящем описании не указано иначе или это четко не противоречит контексту.

Специалистам в этой области будут понятны многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления изобретения, представленных в настоящем описании, или они могут определить их с использованием не более чем рутинного экспериментирования. Такие эквиваленты предусмотрены формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело, связывающееся с рецептором трансферрина человека (TfR), где антитело содержит:

(i) определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (CDR-H1), определяющую комплементарность область тяжелой цепи 2 (CDR-H2) и определяющую комплементарность область тяжелой цепи 3 (CDR-H3) переменной области тяжелой цепи (VH), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; и определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (CDR-L1), определяющую комплементарность область легкой цепи 2 (CDR-L2) и определяющую комплементарность область легкой цепи 3 (CDR-L3) переменной области легкой цепи (VL), содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16;

(ii) CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 VH, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7; и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 VL, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8; или

(iii) CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 VH, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23; и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 VL, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24.

2. Антитело по п.1, где антитело содержит:

(i) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 155, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 156, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 157; и CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 158, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 159, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 14;

(ii) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 145, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 146, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 147; и CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 148, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 149, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 6; или

(iii) CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 165, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 166, CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 167; и CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 168, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 169, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 22.

3. Антитело по п.1 или 2, где антитело содержит человеческие или гуманизированные каркасные области с:

(i) CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 VH, приведенного в SEQ ID NO: 15, и CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 VL, приведенного в SEQ ID NO: 16;

(ii) CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 VH, приведенного в SEQ ID NO: 7, и CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 VL, приведенного в SEQ ID NO: 8; или

(iii) CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 VH, приведенного в SEQ ID NO: 23, и CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 VL, приведенного в SEQ ID NO: 24.

4. Антитело по любому из пп.1-3, где антитело содержит:

(i) VH, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 80% идентичную SEQ ID NO: 15, и VL, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 80% идентичную SEQ ID NO: 16;

(ii) VH, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере

80% идентичную SEQ ID NO: 7, и VL, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 80% идентичную SEQ ID NO: 8; или

(iii) VH, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 80% идентичную SEQ ID NO: 23, и VL, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 80% идентичную SEQ ID NO: 24.

5. Антитело по любому из пп.1-4, где антитело выбрано из группы, состоящей из полноразмерного IgG, Fab-фрагмента, F(ab')-фрагмента, F(ab')₂-фрагмента, scFv и Fv.

6. Антитело по п.5, где антитело является полноразмерным IgG.

7. Антитело по п.6, где антитело содержит константную область тяжелой цепи изотипа IgG1, приведенную в SEQ ID NO: 175 или SEQ ID NO: 176.

8. Антитело по п.6 или 7, где антитело содержит:

(i) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 80% идентичную SEQ ID NO: 180, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 80% идентичную SEQ ID NO: 181;

(ii) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 80% идентичную SEQ ID NO: 178, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 80% идентичную SEQ ID NO: 179; или

(iii) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 80% идентичную SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 80% идентичную SEQ ID NO: 183.

9. Антитело по п.5, где антитело является F(ab')-фрагментом.

10. Антитело по п.9, где антитело содержит:

(i) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 186, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 181;

(ii) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 185, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 179; или

(iii) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 187, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 85% идентичную SEQ ID NO: 183.

11. Антитело по любому из пп.1-10, где антитело связывается с рецептором трансферрина 1 (TfR1) с K_D менее 10^{-8} M.

12. Нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из пп.1-11.

13. Способ получения антитела против TfR1, включающий культивирование клеток, содержащих нуклеиновую кислоту по п.12, в условиях, подходящих для экспрессии антитела.

14. Комплекс, содержащий антитело по любому из пп.1-11, ковалентно связанный с молекулярной нагрузкой, необязательно, где антитело и молекулярная нагрузка связаны через линкер, необязательно, где молекулярная нагрузка является олигонуклеотидом.

15. Способ детекции рецептора трансферрина в биологическом образце, включающий приведение антитела по любому из пп.1-11 в контакт с биологическим образцом и измерение связывания антитела с биологическим образцом, необязательно, где антитело ковалентно связано с диагностическим средством.

16. Способ доставки молекулярной нагрузки в клетку, включающий приведение клетки в контакт с комплексом по п.14.

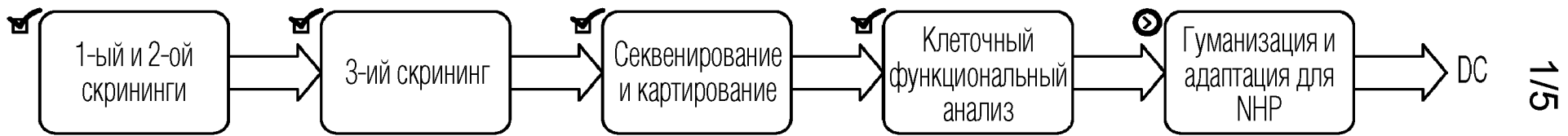
17. Способ по п.16, где клетка является мышечной клеткой.

18. Способ доставки молекулярной нагрузки в головной мозг или мышцу индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества комплекса по п.14.

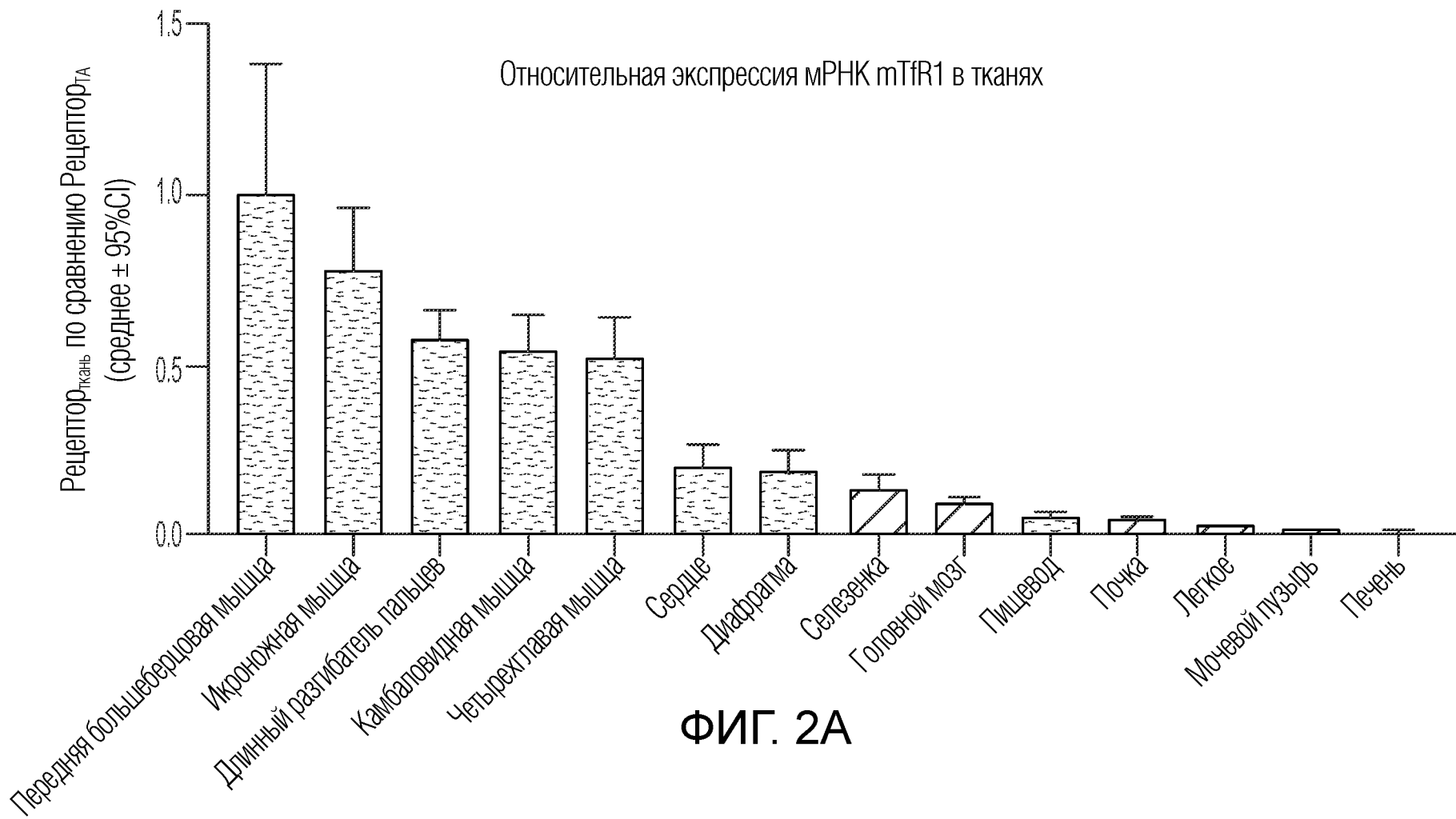
19. Способ лечения заболевания, включающий введение индивидууму эффективного количества комплекса по п.14, где молекулярная нагрузка является терапевтическим средством.

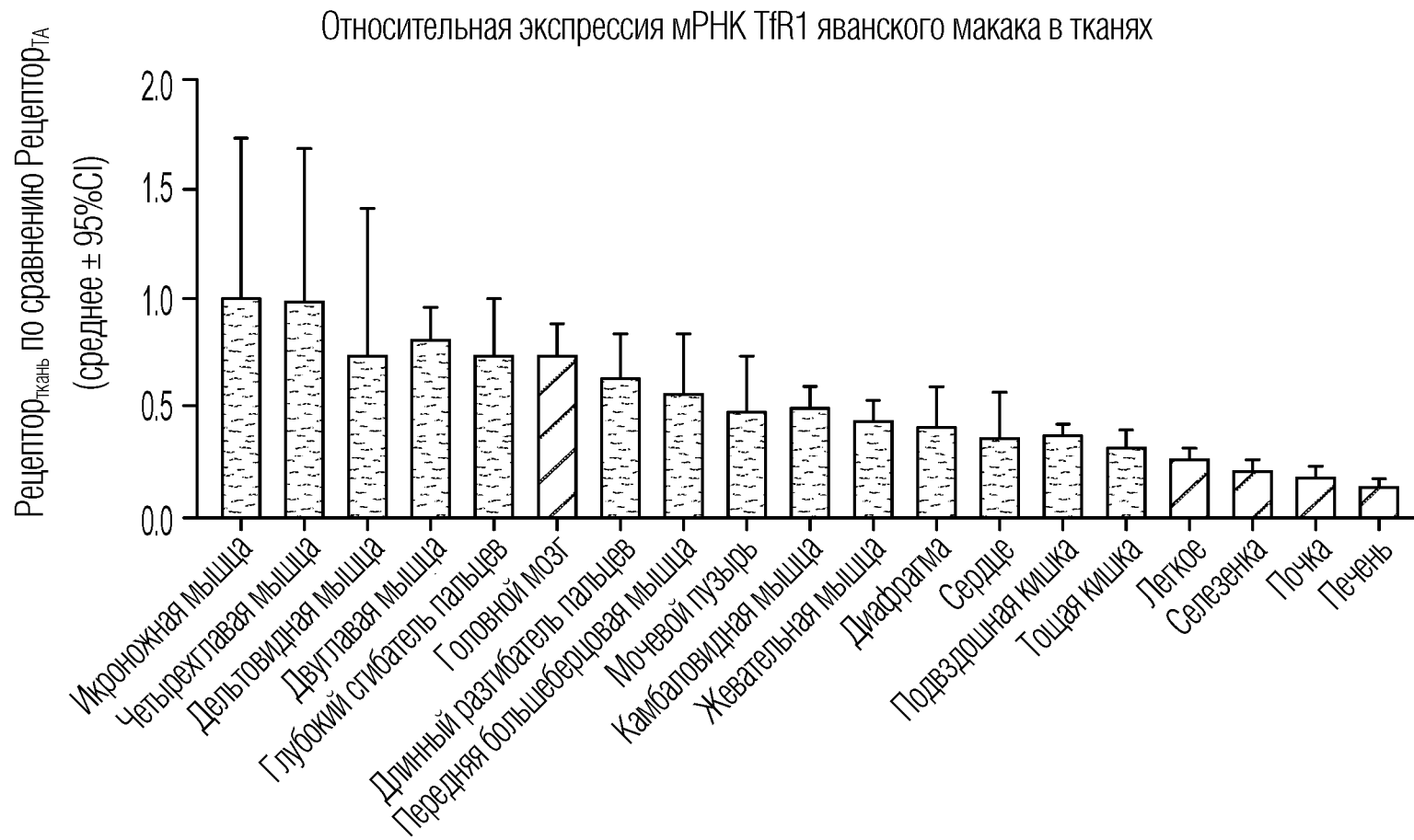
20. Способ по п.19, где заболевание является неврологическим заболеванием, и молекулярная нагрузка является лекарственным средством для лечения неврологического заболевания, или где заболевание является мышечным заболеванием, и молекулярная нагрузка является лекарственным средством для лечения мышечного заболевания, необязательно, где мышечное заболевание является редким мышечным заболеванием или мышечной атрофией.

По доверенности

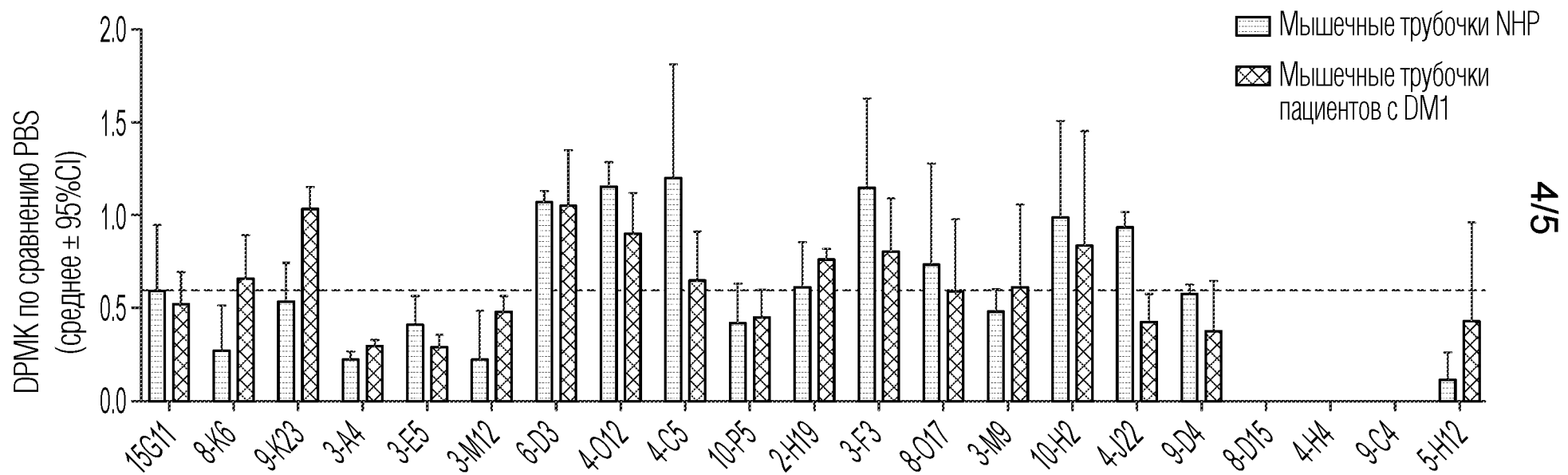


ФИГ. 1





ФИГ. 2В



4/5

ФИГ. 3



ФИГ. 4