

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043303**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.05.12

(51) Int. Cl. **C07K 16/36** (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
201892716

(22) Дата подачи заявки
2017.06.12

(54) АНТИТЕЛА К ФАКТОРУ СВЕРТЫВАНИЯ XI

(31) **62/349,888**

(32) **2016.06.14**

(33) **US**

(43) **2019.05.31**

(86) **PCT/US2017/036940**

(87) **WO 2017/218371 2017.12.21**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**МЕРК ШАРП И ДОУМ ЭлЭлСи;
АДИМАБ, ЭЛЭЛСИ (US)**

(72) Изобретатель:
**Чэнь Чжу, Эллсворт Кеннет П.,
Миллиган Джеймс, Олдхэм Элизабет,
Сейфферт Дитмар, Ганти Вайшнави,
Табризифард Мохаммад, Принц
Бьянка (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) **US-A1-2015322163**

US-A1-2015093395

Cristina Puy ET AL.: "Activated factor XI increases the procoagulant activity of the extrinsic pathway by inactivating tissue factor pathway inhibitor", 13 January 2015 (2015-01-13), XP055293619, DOI: 10.1182/blood-2014-10-604587, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/125/9/1488.full.pdf> [retrieved on 2016-08-04], figure all; example all; table all

M. L. VAN MONTFOORT ET AL.: "Two novel inhibitory anti-human factor XI antibodies prevent cessation of blood flow in a murine venous thrombosis model", THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS, vol. 110, no. 5, 8 August 2013 (2013-08-08), pages 1065-1073, XP055293624, DE ISSN: 0340-6245, DOI: 10.1160/TH13-05-0429, figure all; example all; table all

(57) Изобретение относится к антителу, которое предназначено для лечения тромбозмболического нарушения или заболевания, в частности к антителу, которое связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI). Изобретение также относится к применению указанного антитела для лечения тромбозмболического нарушения или заболевания, содержащей его композиции, а также к выделенной молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей указанное антитело.

B1**043303****043303****B1**

Перекрестная ссылка на связанные заявки

Эта заявка заявляет приоритет предварительной заявки США № 62/349888, поданной 14 июня 2016 года, которая включена в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

Предшествующий изобретению уровень техники

(1) Область изобретения

Настоящее изобретение относится к антителам, которые связываются с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) человека и ингибируют активацию FXI фактором свертывания XIIa, а также действие FXIa на фактор IX (FIX).

(2) Описание предшествующего уровня техники

Тромбоэмболические нарушения, которые включают в себя и венозный и артериальный тромбоз, остаются основной причиной заболеваемости и смертности в западном мире, несмотря на наличие многочисленного класса антикоагулянтов, таких как антагонисты витамина К (ABK), гепарины и прямые ингибиторы тромбина (Weitz et al., Chest 2008, 133: 234S-256S; Hawkins, Pharmacotherapy 2004, 24:62S-65S). Эти лекарственные средства эффективны для снижения риска тромбоза, но они ассоциированы с множеством ограничений. Например, ABK (например, варфарин) были основой для пероральной антикоагуляции, хотя управление терапией ABK осложнено из-за значительного риска кровотечения, медленного начала и окончания действия, и множества пищевых и лекарственных взаимодействий (Hawkins, в цитируемой работе; Ansell J et al., Chest 2008, 133:160S-198S). Пероральные антикоагулянты, не являющиеся антагонистами витамина К (НПАК, в том числе ривароксабан, апиксабан, эдоксабан и дабигатран), демонстрируют, по меньшей мере, не меньшую эффективность по сравнению с варфарином, с меньшими пищевыми и лекарственными взаимодействиями, и не требуют мониторинга. Однако, НПАК все еще повышают риск кровотечения, о чем свидетельствуют почти 15% ежегодных случаев клинически значимых или не значимых кровотечений в регистрационных исследованиях по профилактике инсульта при фибрилляции предсердий (Connolly et al., N Engl J Med 2009, 361:1139-1151; Patel et al., N Engl J Med 2011, 365:883-891; Granger et al., N Engl J Med 2011, 365:981-992; Giugliano et al., N Engl J Med 2013, 369:2093-2104). Это в значительной степени связано с фактом, что белки-мишени для НПАК (фактор свертывания Ха (FXa) и тромбин) необходимы для нормального свертывания (гемостаза). Таким образом, востребована новая терапия с лучшими профилями безопасности для профилактики и лечения тромботических заболеваний или нарушений.

В классической каскадной модели (модели водопада) свертывания крови (фиг. 1A), свертывание запускается либо внешним путем (активированным тканевым фактором (ТФ)) или внутренним путем (контактная активация); и тот, и другой приводят к общему пути, который завершается образованием тромбина и фибрина (Furie & Furie, Cell 1988, 53:505-518; Gailani & Renne, J Thromb Haemost 2007, 5:1106-1112). Внешний каскад запускается, когда ТФ, который присутствует в субэндотелии и атеросклеротических бляшках, подвергается действию текущей крови и образует комплекс с фактором свертывания VIIa (FVIIa). Комплекс TF-FVIIa (комплекс внешней теназы) затем запускает общий путь, т.е. активацию FX для образования Fxа, который в свою очередь превращает протромбин в тромбин. Комплекс TF-FVIIa может также активировать фактор свертывания IX (FIX) для образования FIXa. FIXa в комплексе с фактором свертывания VIII (FVIIIa) (комплекс внутренней теназы) может также расщеплять субстрат FX. Внутренний каскад запускается, когда образуется FXIIa путем контактной активации с отрицательно заряженными поверхностями (например, коллагеном и гликозаминогликанами) и распространяется образование тромбина путем последовательной активации FXI, FIX, FX и протромбина. Тромбин в качестве конечной протеазы в каскаде свертывания, может дополнительно вносить вклад в образование FXIa путем прямой активации FXI по механизму обратной связи. Тромбоциты, еще один важный компонент свертывания в цельной крови, могут быть активированы тромбином и могут затем также поддерживать образование FXIa. FXI-зависимое распространение образования тромбина может непрямым образом регулировать фибринолиз путем активации активируемого тромбином ингибитора фибринолиза (АТИФ). FXI, таким образом, взаимодействует с несколькими компонентами в системе гемостаза и играет основную роль в свертывании крови и тромбозе (Gailani & Renne, в цитируемой работе; Emsley et al., Blood 2010, 115:2569-2577).

Фактор свертывания XI (FXI) представляет собой димер, состоящий из идентичных субъединиц по 80 КДа, и каждая субъединица, начиная с N-конца, состоит из четырех доменов apple (A1, A2, A3, и A4) и каталитического домена (См. фиг. 1B). FXI представляет собой зимоген, который циркулирует в комплексе с высокомолекулярным киненом (БК). БК связывается с доменом A2 в FXI и представляет собой физиологический кофактор FXIIa для активации FXI в FXIa. Остальные домены apple в FXI также опосредуют важные физиологические функции. Например, FIX-связывающий внешний участок расположен в A3, в то время как участок связывания FXIIa расположен в A4. Остатки, которые важны для димеризации FXI, также расположены в A4 (Emsley et al., в цитируемой работе).

В последние годы несколько направлений работ продемонстрировали, что FXI играет основную роль в патологическом процессе формирования тромба с относительно небольшим вкладом в гемостаз и, таким образом, представляет собой перспективную мишень при тромбозе. Ключевые данные, поддерживающие это мнение, обобщены далее: (1) в фазе II исследования антисмысловой олигонуклеотид (ASO)

для FXI от Ionis Pharmaceuticals Inc. (Buller et al., N Engl J Med 2015, 372:232-240), ASO для FXI вызывает значительное снижение венозной тромбоземболии (ВТЭ) с тенденцией к меньшему количеству кровотечений по сравнению с эноксапарином у пациентов, которые подверглись полной артропластике колена; (2) Исследования генетики и эпидемиологии человека (Duga et al., Semin Thromb Hemost 2013; Chen et al., Drug Discov Today 2014; Key, Hematology Am Soc Hematol Educ 2014 Program 2014:66-70) указывают, что тяжелая недостаточность FXI (гемофилия C) связана со сниженным риском ишемического инсульта и тромбоза глубоких вен; напротив, повышенные уровни FXI ассоциированы с более высоким риском ВТЭ и ишемического инсульта; и (3) целый ряд направлений преклинических исследований продемонстрировал, что ингибирование или потеря функции FXI(a) опосредуют значительную защиту от тромбов без нарушения гемостаза (Chen et al. в цитируемой работе). Следует отметить, что моноклональные антитела 14E11 и 1A6 производят значительное уменьшение тромбов в модели тромбоза с артерио-венозным шунтом у бабуина (патент США № 8388959; патент США № US 8236316; Tucker et al., Blood 2009, 113:936-944; Cheng et al., Blood 2010, 116:3981-3989). Кроме того, 14E11 (поскольку оно перекрестно реагирует с мышшиным FXI) обеспечивало защиту у экспериментальной модели острого ишемического инсульта у мышей (Leung et al., Transl Stroke Res 2012, 3:381-389). Также были описаны дополнительные мАТ, нацеленные на FXI, в доклинических моделях для валидации FXI в качестве антитромботической мишени с минимальным риском кровотечения (van Montfoort et al., Thromb Haemost 2013, 110; Takahashi et al., Thromb Res 2010, 125:464-470; van Montfoort, Ph.D. Thesis, University of Amsterdam, Amsterdam, Netherlands, 14 November 2014). Ингибирование FXI, таким образом, представляет собой перспективную стратегию для новой антитромботической терапии с улучшенным профилем "польза-риск" по сравнению с существующими стандартами лечения антикоагулянтами.

В настоящее время существует большая неудовлетворенная медицинская потребность в антитромботической терапии для пациентов с тяжелой или терминальной стадией почечной недостаточности (ТХПН). Приблизительно 650000 пациентов в США имеют тяжелую или терминальную ХПН, и эти пациенты страдают от чрезвычайно высокой встречаемости тромботических и тромбоземболических осложнений (инфаркта миокарда, инсульта/транзиторной ишемической атаки, заболевания периферических артерий (РАД), нарушения сосудистого доступа). Пациенты с ТХПН также с большей вероятностью имеют кровотечения, чем общая популяция. Поскольку пациентам с ТХПН обычно не прописывают антикоагуляцию какого-либо типа (из-за риска кровотечения и отсутствия данных для пероральных коагулянтов, не являющихся антагонистами витамина К (НПАК), при ТХПН), существует необходимость в антитромботической терапии, которая имеет приемлемый профиль "польза-риск" у этих пациентов.

Краткая сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к антителам человека, способным избирательно связываться с фактором свертывания XI (антитела к FXI) и ингибировать свертывание крови и ассоциированный с ним тромбоз, предпочтительно без нарушения гемостаза. Композиции включают антитела к фактору свертывания XI, способные связываться с определенным эпитопом домена apple 3 (A3) фактора свертывания XI. Эти антитела демонстрируют нейтрализующую активность путем ингибирования превращения зимоговой формы FXI в его активированную форму, FXIa, под действием FXIIa, и ингибирования FXIa-опосредованной активации FIX. Антитела подходят для ингибирования FXI, что может иметь клинически значимый антитромботический эффект со сниженным риском кровотечений, и, таким образом, могут иметь расширенный терапевтический индекс по сравнению с ингибированием факторов свертывания, расположенных в каскаде ниже, таких как FXa и тромбин. Таким образом, эти антитела обеспечивают терапевтический подход для профилактики тромбоземболических осложнений, например профилактики инсульта при фибрилляции предсердий (SPAF).

Одна необслуживаемая когорта с риском сосудистого тромбоза, которая может получить пользу от ингибирования FXI, представляет собой популяцию с тяжелой и терминальной стадией почечной недостаточности (ТХПН), у которой, как правило, не используют пероральные антикоагулянты, не являющиеся антагонистами витамина К (НПАК), из-за причин, связанных с кровотечением, что привело к отсутствию опыта клинических исследований. Антитела в настоящем документе обеспечивают новую антикоагулянтную терапию для профилактики тромботических осложнений у пациентов с ТХПН. Антитела в настоящем документе могут обеспечить клинически значимую антитромботическую эффективность в сочетании с приемлемым риском кровотечений у пациентов с ТХПН.

Помимо ТХПН и SPAF, ингибирование FXI также может быть показано дополнительным сегментам пациентов с высоким риском тромбоза. Они включают:

- 1) венозную тромбоземболию (ВТЭ) профилактику при ортопедической хирургии и/или вторичную профилактику ВТЭ;
- 2) снижение повторной васкуляризации и/или уменьшение серьезных нежелательных осложнений в конечностях (MALE) при атеросклерозе периферических артерий (АПА);
- 3) адъювантную терапию при остром коронарном синдроме (ОКС).

Настоящее изобретение относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему, по меньшей мере, шесть определяющих комплементарность областей (CDR) из антитела к FXI из семейства α FXI-18623p, семейства α FXI-18611p или семейства α FXI-18611, или по меньшей мере шесть

определяющих комплементарность областей (CDR) из антитела к FXI из семейства α FXI-18623p, семейства α FXI-18611p или семейства α FXI-18611, где одна или более из шести CDR имеют одну, две, или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, где антитело из семейства α FXI-18623 содержит переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 28 или 29, и переменную область легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 30; антитело из семейства α FXI-18611p содержит переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 21 или 22, и переменную область легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25; и антитело из семейства α FXI-18611 содержит переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 23 или 24, и переменную область легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25. В дополнительных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, шесть CDR включают или содержат CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи антитела к FXI из семейства α FXI-18623p, семейства α FXI-18611p или семейства α FXI-18611, и CDR1, CDR2, и CDR3 легкой цепи антитела из семейства α FXI-18623p, семейства α FXI-18611p или семейства α FXI-18611, где антитело из семейства α FXI-18623 содержит переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 28 или 29, и переменную область легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 30; антитело из семейства α FXI-18611p содержит переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 21 или 22, и переменную область легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25; и антитело из семейства α FXI-18611 содержит переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 23 или 24, и переменную область легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25. В дополнительных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, выбранную из группы аминокислотных последовательностей, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 23, и 24; и переменную область легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25; где каркас переменной области тяжелой цепи может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, и каркас переменной области легкой цепи может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, выбранную из группы аминокислотных последовательностей, состоящей из SEQ ID NO: 21, 22, 23, и 24; и переменную область легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, выбранную из группы аминокислотных последовательностей, состоящей из SEQ ID NO: 28 и 29; и переменную область легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 30; где каркас переменной области тяжелой цепи может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, и каркас переменной области легкой цепи может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, выбранную из группы аминокислотных последовательностей, состоящей из SEQ ID NO: 28 и 29; и переменную область легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 30.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4 человека. В дополнительных аспектах, константный домен может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания. В конкретных аспектах, константный домен может содержать или не содержать C-концевой лизин.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1 или IgG4 человека. В дополнительном аспекте константный домен тяжелой цепи относится к изотипу IgG4 и дополнительно включает замену остатка серина в положении 228 (нумерация по EU) пролином, что соответствует положению 108 SEQ ID NO: 16 или 17 (серин в положении 108).

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16, 17, 18, или 19.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен легкой цепи типа каппа или лямбда человека.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, выбранную из группы аминокислотных последовательностей, состоящей из SEQ ID NO: 33, 35, 37, 39, 45, 47, 49, 51, 57, 59, 61, 63, 69, 71, 73 и 75; и легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 26.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, выбранную из группы аминокислотных последовательностей, состоящей из SEQ ID NO: 41, 43, 53, 55, 65, 67, 77 и 79; и легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 31.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, содержащему: (а) вариабельный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 28, и вариабельный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 30; (b) вариабельный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 29, и вариабельный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 30; (b) вариабельный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 21, и вариабельный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25; (c) вариабельный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 22, и вариабельный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25; (d) вариабельный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 23, и вариабельный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25, или (е) вариабельный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 24, и вариабельный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25.

В дополнительных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

В конкретных вариантах осуществления вариабельные области тяжелой и легкой цепи могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот, или их сочетания.

В конкретных вариантах осуществления константные домены тяжелой и легкой цепи могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот, или их сочетания. В конкретных аспектах константный домен может содержать или не содержать С-концевой лизин.

В конкретных вариантах осуществления вариабельные области тяжелой и легкой цепи могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот, или их сочетания, и константные домены тяжелой и легкой цепи могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания. В конкретных аспектах константный домен может содержать или не содержать С-концевой лизин.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело дополнительно содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:16, 17, 18, или 19 или ее вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело дополнительно содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:20 или ее вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительном аспекте или варианте осуществления изобретения, антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(а) вариабельный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 28, и вариабельный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 30; (b) вариабельный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 29, и вариабельный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 30; (c) вариабельный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 21, и вариабельный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25; (d) вариабельный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 22, и вариабельный домен легкой цепи с аминокислотной

последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25; (е) переменный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 23, и переменный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25; (f) переменный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 24, и переменный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 25; (g) вариант (a), (b), (c), (d), (e), или (f), где каркас переменной области тяжелой цепи содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетаний; или (h) вариант (a), (b), (c), (d), (e), (f) или (g), где каркас переменной области легкой цепи содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетаний.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу, содержащему: (a) тяжелую цепь (HC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 1, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 2, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 3; (b) тяжелую цепь (HC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 1, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 2, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 4; или (c) тяжелую цепь (HC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 8, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 9, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 10. В дополнительных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4 человека. В дополнительных аспектах константный домен может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, по сравнению с аминокислотной последовательностью нативного константного домена тяжелой цепи для изотипа IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4 человека. В конкретных аспектах константный домен может содержать или не содержать C-концевой лизин.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1 или IgG4 человека. В дополнительном аспекте константный домен тяжелой цепи относится к изотипу IgG4 и дополнительно включает замену остатка серина в положении 228 (нумерация по EU) пролином, что соответствует положению 108 SEQ ID NO:16 или 17 (серин в положении 108).

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи IgG4, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:16 или 17. В дополнительных аспектах, константный домен может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи IgG1, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 18 или 19. В дополнительных аспектах константный домен может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, содержащему:

(a) легкую цепь (LC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 5, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 6, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 7; или

(b) легкую цепь (LC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 11, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 12, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 13. В дополнительных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, легкая цепь (LC) содержит легкую цепь kappa человека или легкую цепь lambda человека или их вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию

FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX. В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи IgG4, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16 или 17, или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи IgG1, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 18 или 19, или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, содержащему:

(a) тяжелую цепь (HC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 1, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 2, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 3; и

(b) легкую цепь (LC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 5, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 6, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 7. В дополнительных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, легкая цепь (LC) содержит легкую цепь каппа человека или легкую цепь ламбда человека, или ее вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX. В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания по сравнению с аминокислотной последовательностью нативного изотипа IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX. В дополнительных аспектах, константный домен может содержать или не содержать C-концевой лизин.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1 или IgG4 человека или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX. В дополнительном аспекте, константный домен тяжелой цепи относится к изотипу IgG4 и дополнительно включает замену остатка серина в положении 228 (нумерация по EU) пролином, что соответствует положению 108 SEQ ID NO: 16 или 17 (серин в положении 108).

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи IgG4, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16 или 17, или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи IgG1, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 18 или 19, или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

активацию фактора IX.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, содержащему:

(а) тяжелую цепь (HC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 1, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 2, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 4; и

(б) легкую цепь (LC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 5, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 6, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 7. В дополнительных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения легкая цепь содержит легкую цепь kappa человека или легкую цепь lambda человека или ее вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX. В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания по сравнению с аминокислотной последовательностью нативного изотипа IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX. В дополнительных аспектах константный домен может содержать или не содержать C-концевой лизин.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1 или IgG4 человека или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX. В дополнительном аспекте, константный домен тяжелой цепи относится к изотипу IgG4 и дополнительно включает замену остатка серина в положении 228 (нумерация по EU) пролином, что соответствует положению 108 SEQ ID NO: 16 или 17 (серин в положении 108).

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи IgG4, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16 или 17, или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи IgG1, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 18 или 19, или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, содержащему:

(а) тяжелую цепь (HC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 8, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 9, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 10; и

(б) легкую цепь (LC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 11, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 12, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 13. В дополнительных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредован-

ную фактором XIa активацию фактора IX.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения легкая цепь содержит легкую цепь каппа человека или легкую цепь лямбда человека или ее вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX. В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4 или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания по сравнению с аминокислотной последовательностью нативного изотипа IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX. В дополнительных аспектах константный домен может содержать или не содержать C-концевой лизин.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1 или IgG4 человека или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX. В дополнительном аспекте константный домен тяжелой цепи относится к изотипу IgG4 и дополнительно включает замену остатка серина в положении 228 (нумерация по EU) пролином, что соответствует положению 108 SEQ ID NO: 16 или 17 (серин в положении 108).

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи IgG4, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16 или 17, или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи IgG1, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 18 или 19, или его вариант, содержащий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения настоящее изобретение относится к антителу, содержащему: (a) тяжелую цепь (HC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит (i) каркас HC и определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 8, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 9, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 10; (ii) каркас HC и определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 1, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 2, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 3; (iii) каркас HC и определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 1, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 2, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 4; (iv) вариант (i), (ii), или (iii), где по меньшей мере одна из HC CDR 1, HC-CDR 2, или CDR 3 содержит 1, 2 или 3 замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания; или (v) вариант (i), (ii), (iii), или (iv), где каркас HC содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания; (b) легкую цепь (LC) с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит (i) каркас LC и легкую цепь, содержащую определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 11, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 12, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 13; (ii) каркас LC и определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 5, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 6, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 7; (iii) вариант (i) или (ii), где по меньшей мере одна из LC CDR 1, LC-CDR 2 или LC-CDR 3 содержит 1, 2 или 3 замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания; или (iv) вариант (i), (ii), или (iii), где каркас LC содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания; или (c) HC из (a) и LC из (b); где антитело связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa акти-

довательностью, показанной в SEQ ID NO: 31.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу, содержащему тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 57, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 31.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу, содержащему тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 65, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 31.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу, содержащему тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 67, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 31.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу, содержащему тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 69, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 31.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу, содержащему тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 77, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 31.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу, содержащему тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 79, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 31.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, которые перекрестно блокируют связывание или конкурируют за связывание с антителом, содержащим тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 33, 35, 37, 45, 47, 49, 51, 59, 61, 63, 69, 71, 73 или 75 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 26; или антителом, содержащим тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 39, 41, 43, 53, 55, 57, 65, 67, 69, 77 или 79 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 31 при условии, что антитело или антигенсвязывающий фрагмент не содержат аминокислотные последовательности мыши или крысы.

В дополнительном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент не содержат не принадлежащие человеку аминокислотные последовательности.

В дополнительном варианте осуществления антитело содержит (i) константный домен IgG1 человека или его вариант, или его модифицированное производное, или (ii) константный домен IgG4 человека или его вариант, или его модифицированное производное.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, который содержит, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, который содержит, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG4 представляет собой вариант, который содержит, по меньшей мере, замену серина в положении 228 (нумерация по EU) или положении 108, как показано в настоящем документе, остатком пролина.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, в котором, по меньшей мере, отсутствует лизин на С-конце.

В дополнительном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит последовательности варибельного домена, содержащие каркас, характерный для антител человека.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, которые перекрестно блокируют связывание или конкурируют за связывание с антителом, содержащим тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 33, 35, 37, 45, 47, 49, 51, 59, 61, 63, 69, 71, 73, или 75, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 26; или антителом, содержащим тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 39, 41, 43, 53, 55, 57, 65, 67, 69, 77 или 79, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 31.

В дополнительном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент не содержат не принадлежащие человеку аминокислотные последовательности.

В дополнительном варианте осуществления антитело содержит (i) константный домен IgG1 человека или его вариант, или его модифицированное производное, или (ii) константный домен IgG4 человека или его вариант, или его модифицированное производное.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, который содержит, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, который содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

кислот или их сочетания.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG4 представляет собой вариант, который содержит, по меньшей мере, замену серина в положении 228 (нумерация по EU) или положении 108, как показано в настоящем документе, остатком пролина.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, в котором, по меньшей мере, отсутствует лизин на С-конце.

В дополнительном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит последовательности варибельного домена, содержащие каркас, характерный для антител человека.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, которые связываются с эпитопом на факторе свертывания XI (FXI), содержащем аминокислотную последовательность YATRQFPSLEHRNICL (SEQ ID NO: 82) и аминокислотную последовательность HTQTGTPTRITKL (SEQ ID NO: 83) при условии, что антитело или антигенсвязывающий фрагмент не содержит аминокислотные последовательности мыши или крысы. В конкретных вариантах осуществления связывание с эпитопом определяют путем масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена.

В дополнительном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент не содержат не принадлежащие человеку аминокислотные последовательности.

В дополнительном варианте осуществления антитело содержит (i) константный домен IgG1 человека или его вариант, или его модифицированное производное, или (ii) константный домен IgG4 человека или его вариант, или его модифицированное производное.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, который содержит, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, который содержит по меньшей мере 1, 2, 3 или 4 замены, вставки, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG4 представляет собой вариант, который содержит, по меньшей мере, замену серина в положении 228 (нумерация по EU) или положении 108, как показано в настоящем документе, остатком пролина.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, в котором, по меньшей мере, отсутствует лизин на С-конце.

В дополнительном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит последовательности варибельного домена, содержащие каркас, характерный для антител человека.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителу или антигенсвязывающему фрагменту, которые связываются с эпитопом на факторе свертывания XI (FXI), содержащем аминокислотную последовательность YATRQFPSLEHRNICL (SEQ ID NO: 82) и аминокислотную последовательность HTQTGTPTRITKL (SEQ ID NO: 83) при условии, что антитело содержит i) константный домен IgG1 человека или его вариант, или его модифицированное производное, или (ii) константный домен IgG4 человека или его вариант, или его модифицированное производное. В конкретных вариантах осуществления связывание с эпитопом определяют путем масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, который содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, который содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG4 представляет собой вариант, который содержит, по меньшей мере, замену серина в положении 228 (нумерация по EU) или положении 108, как показано в настоящем документе, остатком пролина.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, в котором, по меньшей мере, отсутствует лизин на С-конце.

В дополнительном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит последовательности варибельного домена, содержащие каркас, характерный для антител человека.

Настоящее изобретение дополнительно относится к выделенной молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей варибельный домен легкой цепи или варибельный домен тяжелой цепи любого из указанных выше антител или антигенсвязывающих фрагментов.

Настоящее изобретение дополнительно относится к гуманизированному антителу или антигенсвязывающему фрагменту, которые связываются с эпитопом на факторе свертывания XI (FXI), содержащем аминокислотную последовательность YATRQFPSLEHRNICL (SEQ ID NO: 82) и аминокислотную последовательность HTQTGTPTRITKL (SEQ ID NO: 83) при условии, что антитело содержит i) константный домен IgG1 человека или его вариант, или его модифицированное производное, или (ii) константный домен IgG4 человека или его вариант, или его модифицированное производное. В конкретных вариантах осуществления связывание с эпитопом определяют путем масс-спектрометрии водородно-дейтериевого

обмена.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, который содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, который содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG4 представляет собой вариант, который содержит, по меньшей мере, замену серина в положении 228 (нумерация по EU) или положении 108, как показано в настоящем документе, остатком пролина.

В дополнительном варианте осуществления константный домен IgG1 или IgG4 представляет собой вариант, в котором, по меньшей мере, отсутствует лизин на С-конце.

В дополнительном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит последовательности переменного домена, содержащие каркас, характерный для антител человека.

Настоящее изобретение дополнительно относится к выделенной молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей переменный домен легкой цепи или переменный домен тяжелой цепи любого из указанных выше антител или антигенсвязывающих фрагментов.

Настоящее изобретение дополнительно относится к композиции, содержащей антитело или антигенсвязывающий фрагмент любого из указанных выше антител или антигенсвязывающих фрагментов и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

Настоящее изобретение дополнительно относится к способу лечения тромбоэмболического нарушения или заболевания у индивидуума, включающему введение индивидууму эффективного количества любого антитела или антигенсвязывающего фрагмента из указанных выше антител или антигенсвязывающих фрагментов.

Настоящее изобретение дополнительно относится к способу лечения тромбоэмболического нарушения или заболевания у индивидуума, включающему введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективного количества любого антитела или антигенсвязывающего фрагмента из указанных выше антител или антигенсвязывающих фрагментов.

Настоящее изобретение дополнительно относится к применению любого антитела из указанных выше антител или антигенсвязывающих фрагментов для получения лекарственного средства для лечения тромбоэмболического нарушения или заболевания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к любому антителу из указанных выше антител или антигенсвязывающих фрагментов для лечения тромбоэмболического нарушения или заболевания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к способу получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего (i) тяжелую цепь с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит тяжелую цепь, содержащую определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 1, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 2, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 3 или 4; и (ii) легкую цепь с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 5, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 6, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 7, способу, включающему создание клетки-хозяина, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую тяжелую цепь, и молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую легкую цепь; и культивирование клетки-хозяина в условиях и в течение времени, достаточных для получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG4.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16, 17, 18, или 19.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, легкая цепь содержит легкую цепь каппа человека или легкую цепь ламбда человека.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения, антитело содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения клетка-хозяин представляет собой клетку яичника китайского хомяка или клетку 293 эмбриональной почки человека.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения клетка-хозяин представляет собой клетку дрожжей или нитевидного гриба.

Настоящее изобретение дополнительно относится к способу получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего (i) тяжелую цепь с константным доменом и вариабельным доменом, где вариабельный домен содержит тяжелая цепь, содержащую определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 1, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 2, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 3 или 4; и (ii) легкую цепь с константным доменом и вариабельным доменом, где вариабельный домен содержит определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 5, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 6, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 7, способу, включающему создание клетки-хозяина, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую тяжелую цепь, и молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую легкую цепь; и культивирование клетки-хозяина в условиях и в течение времени, достаточных для получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG4.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16, 17, 18, или 19.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения легкая цепь содержит легкую цепь каппа человека или легкую цепь лямбда человека.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения клетка-хозяин представляет собой клетку яичника китайского хомяка или клетку 293 эмбриональной почки человека.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения клетка-хозяин представляет собой клетку дрожжей или нитевидного гриба.

Способ получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего (i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 1, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 2, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 3 или 4, или HC-CDR 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 8, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 9, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 10; и (ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 5, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 6, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 7, или LC-CDR 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 11, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 12, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 13, способу, включающему создание клетки-хозяина, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую тяжелую цепь, и молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую легкую цепь; и культивирование клетки-хозяина в условиях и в течение времени, достаточных для получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG4.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16, 17, 18 или 19.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения легкая цепь содержит легкую цепь каппа человека или легкую цепь лямбда человека.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения антитело содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения клетка-хозяин представляет собой клетку яичника китайского хомяка или клетку 293 эмбриональной почки человека.

В дополнительных аспектах или вариантах осуществления изобретения клетка-хозяин представляет собой клетку дрожжей или нитевидного гриба.

Настоящее изобретение дополнительно относится к композиции, содержащей любое из указанных

выше антител и фармацевтически приемлемый носитель. В конкретных вариантах осуществления композиция содержит смесь антител, содержащих тяжелую цепь с С-концевым лизином, и антител, содержащих тяжелую цепь без С-концевого лизина. В конкретных вариантах осуществления композиция содержит антитело, описываемое в настоящем документе, где преобладающая форма антитела содержит тяжелую цепь с С-концевым лизином. В конкретных вариантах осуществления композиция содержит антитело, описываемое в настоящем документе, где преобладающая форма антитела содержит тяжелую цепь без С-концевого лизина. В конкретных вариантах осуществления композиция содержит антитело, описываемое в настоящем документе, где приблизительно 100% антител в композиции содержат тяжелую цепь без С-концевого лизина.

Определения

Как применяют в настоящем документе, "антитело" относится как к иммуноглобулину целиком, включая формы, полученные рекомбинантным путем, так и включает любую форму антитела, которая демонстрирует желаемую биологическую активность. Таким образом, он применяется в самом широком смысле и конкретно включает, в качестве неограничивающих примеров, моноклональные антитела (в том числе полноразмерные моноклональные антитела), поликлональные антитела, полиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), гуманизированные, полностью человеческие антитела, бипаратопные антитела и химерные антитела. "Родительские антитела" представляют собой антитела, полученные путем презентации антигена иммунной системе перед модификацией антител для заданного применения, такой как гуманизация антитела для применения в качестве терапевтического антитела для человека.

"Антитело" в одном из вариантов осуществления относится к гликопротеину, содержащему по меньшей мере две тяжелых (H) цепи и две легких (L) цепи, взаимосвязанные дисульфидными связями, или к его антигенсвязывающей части. Каждая тяжелая цепь состоит из варибельной области тяжелой цепи (сокращенной в настоящем документе как V_H) и константной области тяжелой цепи. В определенных природных антителах IgG, IgD и IgA константная область тяжелой цепи состоит из трех доменов, CH1, CH2 и CH3. В определенных природных антителах каждая легкая цепь состоит из варибельной области легкой цепи (сокращенной в настоящем документе как V_L) и константной области легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного домена CL. Области V_H и V_L можно дополнительно разделить на области гиперварибельности, которые называются определяющие комплементарность области (CDR), разделенные более консервативными областями, которые называются каркасные области (FR). Каждая V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Варибельные области тяжелых и легких цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (Clq) классической системы комплемента.

Как правило, основная структурная единица антитела содержит тетрамер. Каждый тетрамер включает две идентичных пары полипептидных цепей, каждая пара с одной "легкой" (приблизительно 25 кДа) и одной "тяжелой" цепью (приблизительно 50-70 кДа). Амино-концевая часть каждой цепи включает варибельную область размером приблизительно от 100 до 110 или больше аминокислот, исходно отвечающих за распознавание антигена. Карбокси-концевая часть тяжелой цепи может определять константную область, исходно отвечающую за эффекторную функцию. Как правило, легкие цепи человека классифицируют как легкие цепи каппа и лямбда. Кроме того, тяжелые цепи человека, как правило, классифицируют как мю, дельта, гамма, альфа, или эпсилон, и определяют изотип антитела как IgM, IgD, IgG, IgA и IgE соответственно. Внутри легких и тяжелых цепей варибельные и константные области соединены областью "J" приблизительно из 12 или более аминокислот, и тяжелая цепь также включает область "D" приблизительно еще из 10 аминокислот. См. в основном, *Fundamental Immunology* Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)).

Тяжелая цепь антитела может содержать или не содержать концевой лизин (K), или концевые глицин и лизин (GK). Таким образом, в конкретных вариантах осуществления антитела в настоящем документе, содержащие аминокислотную последовательность константной области тяжелой цепи, показанную в настоящем документе, которая не содержит концевой лизин и заканчивается остатком глицина, дополнительно включают варианты осуществления, в которых отсутствует также концевой остаток глицина. Это происходит, поскольку концевой лизин и иногда глицин и лизин вместе отщепляются во время экспрессии антителам.

Как применяют в настоящем документе, "антигенсвязывающий фрагмент" относится к фрагментам антител, т.е. фрагментам антител, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном, с которым связывается полноразмерное антитело, например, фрагментам, которые сохраняют одну или более областей CDR. Примеры связывающих фрагментов антител в качестве неограничивающих примеров включают фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv; диатела; молекулы одноцепочечных антител, например sc-Fv; нанотела и полиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

Как применяют в настоящем документе, "фрагмент Fab" состоит из одной легкой цепи и C_H1 и ва-

риабельных областей одной тяжелой цепи. Тяжелая цепь молекулы Fab не может формировать дисульфидную связь с другой молекулой тяжелой цепи. "Фрагмент Fab" может быть продуктом расщепления антитела папаином.

Как применяют в настоящем документе, "фрагмент Fab" содержит одну легкую цепь и часть или фрагмент одной тяжелой цепи, которая содержит домен V_H и домен C_{H1} и также область между доменами C_{H1} и C_{H2} , таким образом, что может быть образована внутрицепочечная дисульфидная связь между двумя тяжелыми цепями двух фрагментов Fab' для формирования молекулы $F(ab')_2$.

Как применяют в настоящем документе, "фрагмент $F(ab')_2$ " содержит две легких цепи и две тяжелых цепи, включающие домен V_H и часть константной области между доменами C_{H1} и C_{H2} , таким образом, что между двумя тяжелыми цепями образуется внутрицепочечная дисульфидная связь. Фрагмент $F(ab')_2$, таким образом, состоит из двух фрагментов Fab', которые удерживаются вместе дисульфидной связью между двумя тяжелыми цепями. "Фрагмент $F(ab')_2$ " может быть продуктом расщепления антитела пепсином.

Как применяют в настоящем документе, "область F_v " содержит переменные области из тяжелых и легких цепей, но не содержит константные области.

Эти и другие потенциальные конструкции описаны у Chan & Carter (2010) Nat. Rev. Immunol. 10:301. Эти фрагменты антител получают с использованием общепринятых способов, известных специалистам в данной области, и фрагменты отбирают по их способностям тем же образом, что и интактные антитела. Антигенсвязывающие части можно получать способами рекомбинантной ДНК, или путем ферментативного или химического расщепления интактных иммуноглобулинов.

Как применяют в настоящем документе, область "Fc" содержит два фрагмента тяжелой цепи, включающие домены C_{H1} и C_{H2} антитела. Два фрагмента тяжелой цепи удерживаются вместе при помощи двух или более дисульфидных связей и при помощи гидрофобных взаимодействий доменов C_{H3} .

Как применяют в настоящем документе, "диатело" относится к малому фрагменту антител с двумя антигенсвязывающими участками, при этом фрагменты содержат переменный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с переменным доменом легкой цепи (V_L) в одной полипептидной цепи (V_H - V_L или V_L - V_H). При помощи линкера, который слишком короткий, для того чтобы позволить спаривание между двумя доменами на одной цепи, домены принудительно спариваются с комплементарными доменами на другой цепи и создают два антигенсвязывающих участка. Диатела описаны более полно, например в EP 404097; WO 93/11161; и Holliger et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448. Для обзора сконструированных вариантов антител, в основном, см. Holliger and Hudson (2005) Nat. Biotechnol. 23:1126-1136.

Как применяют в настоящем документе, "биспецифическое антитело" представляет собой искусственное гибридное антитело с двумя различными парами тяжелая/легкая цепь, и таким образом, с двумя различными участками связывания. Например, биспецифическое антитело может содержать первую пару тяжелая/легкая цепь с одной тяжелой и одной легкой цепью из первого антитела, содержащих по меньшей мере, шесть CDR из антитела α FXI-13654p, α FXI-13716p, или α FXI-13716, или из вариантов осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, вместе со второй парой тяжелая/легкая цепь с одной тяжелой и одной легкой цепью из второго антитела со специфичностью к интересующему антигену, иному чем FXI. Биспецифические антитела можно получать рядом способов, включая слияние гибридом или связывание фрагментов Fab'. См., например, Songsivilai, et al., (1990) Clin. Exp. Immunol. 79: 315-321, Kostelny, et al., (1992) J Immunol. 148:1547-1553.

Кроме того, биспецифические антитела могут быть образованы как "диатела" (Holliger, et al., (1993) PNAS USA 90:6444-6448) или как "янусины" (Traunecker et al., (1991) EMBO J. 10:3655-3659 и Traunecker, et al., (1992) Int. J. Cancer Suppl. 7:51-52).

Как применяют в настоящем документе, "выделенные" антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, по меньшей мере, частично свободны от других биологических молекул из клеток или клеточных культур, в которых они получены. Такие биологические молекулы включают нуклеиновые кислоты, белки, липиды, углеводы, или другой материал, такой как продукты распада клеток и среда для выращивания. Выделенное антитело или антигенсвязывающий фрагмент могут дополнительно быть, по меньшей мере, частично свободны от компонентов экспрессирующей системы, таких как биологические молекулы из клетки-хозяина или от среды для ее выращивания. Как правило, термин "выделенные" не предназначен для ссылки на полное отсутствие таких биологических молекул или отсутствие воды, буферов или солей или компонентов фармацевтического состава, который включает антитела или фрагменты.

Как применяют в настоящем документе, "моноклональное антитело" относится к популяции по существу гомогенных антител, т.е., молекул антител, включающих популяцию идентичную по аминокислотной последовательности, за исключением возможных природных мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Напротив, препараты обычных (поликлональных) антител, как правило, включают множество различных антител с различными аминокислотными последовательностями в переменных доменах, которые часто специфичны к различным эпитопам. Модификатор "моноклональное" указывает на признак антитела, как полученного, по существу, из гомогенной популяции

антител, и не рассматривается как требование получения антитела каким-то конкретным способом. Например, моноклональные антитела для использования в соответствии с настоящим изобретением можно производить гибридным способом, впервые описанным Kohler et al. (1975) *Nature* 256: 495, или можно производить способами рекомбинантной ДНК (см., например, патент США № 4816567). "Моноклональные антитела" можно также выделять из фаговых библиотек антител при помощи способов, описанных в Clackson et al. (1991) *Nature* 352: 624-628 и Marks et al. (1991) *J. Mol. Biol.* 222: 581-597, например, см. также Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731.

Как применяют в настоящем документе, "химерное антитело" представляет собой антитело с переменным доменом из первого антитела и константным доменом из второго антитела, где (i) первое и второе антитела из различных видов (патент США № 4816567 и Morrison et al., (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 6851-6855) или (ii) первое и второе антитела из различных изотипов, например, переменный домен из антитела IgG1 и константные домены из антитела IgG4, например α FXI-134 65p-IgG4 (S228P). В одном из аспектов переменные домены получены из антитела человека ("родительское антитело"), а последовательности константного домена получены из не принадлежащего человеку антитела (например, от мыши, крысы, собаки, обезьяны, гориллы, лошади). В другом аспекте переменные домены получены из не принадлежащего человеку антитела ("родительское антитело") (например, от мыши, крысы, собаки, обезьяны, гориллы, лошади), а последовательности константного домена получены из антитела человека. В дополнительном аспекте, переменные домены получены из антитела человека IgG1 ("родительское антитело"), а последовательности константного домена получены из антитела человека IgG4.

Как применяют в настоящем документе, "гуманизированное антитело" относится к формам антител, которые содержат последовательности из человеческих и не принадлежащих человеку (например, мышинных, крысиных) антител. В основном, гуманизированное антитело будет содержать все по меньшей мере из одного, и, как правило, двух переменных доменов, в которых гиперпеременные петли соответствуют петлям не принадлежащего человеку иммуноглобулина, и все или по существу все каркасные области (FR) являются последовательностями иммуноглобулина человека. Гуманизированное антитело может необязательно содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина человека (Fc).

Как применяют в настоящем документе, "полностью человеческое антитело" относится к антителу, которое содержит аминокислотные последовательности иммуноглобулина человека или их варианты последовательности, которые содержат мутации, введенные рекомбинантным путем, для создания полностью человеческого антитела с модифицированной функцией или эффективностью, по сравнению с антителом, в котором отсутствуют указанные мутации. Полностью человеческое антитело не содержит не принадлежащих человеку аминокислотных последовательностей иммуноглобулина, например, константные домены и переменные домены, включая CDR, содержат человеческие последовательности помимо тех, полученных из вышеописанных мутаций. Полностью человеческое антитело может включать аминокислотные последовательности антител или иммуноглобулинов, полученных из библиотеки полностью человеческих антител, при этом разнообразие в библиотеке получают *in silico* (См. например, патент США № 8877688 или 8691730). Полностью человеческое антитело включает такие антитела, произведенные в не принадлежащем человеку организме, например, полностью человеческое антитело может содержать мышинные углеводные цепи, если производится мышью, в мышинной клетке или или в гибриде, которая получена из клетки мыши. Аналогично, "антитело мыши или мышинное антитело" относится к антителу, которое содержит только последовательности иммуноглобулина мыши. Альтернативно полностью человеческое антитело может содержать крысиные углеводные цепи, если производится крысой, в клетках крысы или в гибриде, которая получена из клеток крысы. Аналогично "крысиное антитело" относится к антителу, которое содержит только последовательности иммуноглобулина крысы.

Как применяют в настоящем документе, "не принадлежащие человеку аминокислотные последовательности" в отношении антител или иммуноглобулинов относится к аминокислотной последовательности, которая характерна для аминокислотной последовательности не относящегося к человеку млекопитающего. Термин не включает аминокислотные последовательности антител или иммуноглобулинов, полученных из библиотеки полностью человеческих антител, при этом разнообразие в библиотеке получают *in silico* (См. например, патент США № 8877688 или 8691730).

Как применяют в настоящем документе, "эффекторные функции" относятся к тем видам биологической активности, которые связаны с Fc-областью антитела, которые варьируют в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антител включают: связывание C1q и обусловленную комплексом цитотоксичность (CDC), связывание с Fc-рецептором, антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC), фагоцитоз, негативную регуляцию рецепторов клеточной поверхности (например, В-клеточного рецептора) и активацию В-клеток.

Переменные области каждой пары легкая/тяжелая цепь формируют участок связывания антитела. Таким образом, в основном, интактное антитело имеет два участка связывания. За исключением бифункциональных или биспецифических антител два участка связывания, как правило, одинаковые.

Как правило, переменные домены и тяжелых, и легких цепей содержат три гиперпеременные области, которые также называются определяющие комплементарность области (CDR) и расположены

внутри относительно консервативных каркасных областей (FR). CDR, как правило, выровнены каркасными областями, обеспечивая связывание со специфическим эпитопом. Как правило, от N-конца к C-концу, переменные домены легких и тяжелых цепей содержат FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Присвоение аминокислот к каждому домену происходит, как правило, в соответствии с определениями из Sequences of Proteins of Immunological Interest, Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32:1-75; Rabat, et al., (1977) J. Biol. Chem. 252:6609-6616; Chothia, et al., (1987) J Mol. Biol. 196:901-917 или Chothia et al., (1989) Nature 342: 878-883.

Как применяют в настоящем документе, "гипервариабельная область" относится к аминокислотным остаткам антитела, которые отвечают за связывание с антигеном. Гипервариабельная область содержит аминокислотные остатки из "определяющей комплементарности области" или "CDR" (т.е. CDRL1, CDRL2 и CDRL3 в переменном домене легкой цепи и CDRH1, CDRH2 и CDRH3 в переменном домене тяжелой цепи). См. Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (определение областей CDR антитела по последовательности); см. также Chothia и Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917 (определение областей CDR антитела по структуре).

Как применяют в настоящем документе, "каркасные" или "FR" остатки относятся к остаткам переменного домена, иным чем остатки гипервариабельной области, определяемым в настоящем документе как остатки CDR.

Как применяют в настоящем документе, "консервативно модифицированные варианты" или "консервативная замена" относится к замене аминокислот другими аминокислотами с аналогичными характеристиками (например, заряд, размер боковой цепи, гидрофобность/гидрофильность, конформация и жесткость остова, и т.д.), таким образом, что замены часто производят без изменения биологической активности белка. Специалисты в данной области знают, что, как правило, единичные замены аминокислот в несущественных областях полипептида по существу не изменяют биологическую активность (см., например, Watson et al. (1987) Molecular Biology of Gene, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.)). Кроме того, замены структурно или функционально сходными аминокислотами с меньшей вероятностью нарушают биологическую активность. Примеры консервативных замен представлены в таблице ниже.

Исходный остаток	Консервативная замена	Исходный остаток	Консервативная замена
Ala (A)	Gly; Ser	Leu (L)	Ile; Val
Arg (R)	Lys; His	Lys (K)	Arg; His
Asn (N)	Gln; His	Met (M)	Leu; Ile; Tyr
Asp (D)	Glu; Asn	Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Cys (C)	Ser; Ala	Pro (P)	Ala
Gln (Q)	Asn	Ser (S)	Thr
Glu (E)	Asp; Gln	Thr (T)	Ser
Gly (G)	Ala	Trp (W)	Tyr; Phe
His (H)	Asn; Gln	Tyr (Y)	Trp; Phe
Ile (I)	Leu; Val	Val (V)	Ile; Leu

Как применяют в настоящем документе, термин "эпитоп" или "антигенная детерминанта" относится к участку на антигене (например, FXI), с которым специфически связывается иммуноглобулин или антитело. Эпитопы внутри белковых антигенов могут быть образованы из смежных аминокислот (как правило, линейный эпитоп) или не смежных аминокислот, помещенных рядом путем третичного свертывания белка (как правило, конформационный эпитоп). Эпитопы, образованные смежными аминокислотами, как правило, но не всегда, сохраняются при воздействии денатурирующих растворителей, в то время как эпитопы, образованные при третичном свертывании, как правило, исчезают при обработке денатурирующими растворителями. Эпитоп, как правило, включает по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Способы для определения того, какие эпитопы связываются с указанным антителом (т.е., картирование эпитопов) хорошо известны в данной области и включают, например, анализы иммуноблоттинга и иммунопреципитации, где перекрывающиеся или смежные пептиды (например, из FXI) тестируют на реактивность с указанным антителом (например, антителом к FXI). Способы определения пространственной конформации эпитопов включают способы в данной области и способы, описываемые в настоящем документе, например, рентгеноструктурную кристаллографию, двухмерный ядерный магнитный резонанс и HDX-MS (см., например, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)).

Термин "картирование эпитопов" относится к способу идентификации молекулярных детерминант на антигене, участвующих в распознавании антитело-антиген.

Термин "связывается с тем же эпитопом" по отношению к двум или более антителам означает, что антитела связываются с одним и тем же сегментом из аминокислотных остатков, определенным указан-

ным способом. Способы для определения того, связываются ли антитела с "тем же эпитопом на FXI" вместе с антителами, описываемыми в настоящем документе, включает, например, способы картирования эпитопов, такие как рентгеновский анализ кристаллов комплексов антиген:антитело, который обеспечивает атомное разрешение эпитопа, и масс-спектрометрию водородно-дейтериевого обмена (HDX-MS). Другие способы, которые наблюдают за связыванием антитела с фрагментами антигена (например, протеолитическими фрагментами) или с мутированными вариациями антигена, когда отсутствие связывания из-за модификации аминокислотного остатка внутри последовательности антигена часто рассматривают как указание на компонент эпитопа (например, аланин-сканирующий мутагенез, Cunningham & Wells (1985) *Science* 244:1081). Кроме того, для картирования эпитопов также можно использовать способы компьютерной комбинаторики. Эти способы опираются на способности интересующего антитела аффинно выделять специфические короткие пептиды из комбинаторных пептидных библиотек на основе фагового дисплея.

Антитела, которые "конкурируют с другим антителом за связывание с мишенью, такой как FXI" относятся к антителам, которые ингибируют (частично или полностью) связывание другого антитела с мишенью. Конкурируют ли два антитела друг с другом за связывание с мишенью, т.е., ингибирует ли одно антитело связывание другого антитела с мишенью и в какой степени, можно определять при помощи конкурентных экспериментов. В определенных вариантах осуществления антитело конкурирует с другим антителом и ингибирует связывание антитела с мишенью по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100%. Уровень ингибирования или конкуренции может быть различным, в зависимости от того, какое антитело является "блокирующим антителом" (т.е., холодным антителом, которое инкубируют первым с мишенью). Конкурентные анализы можно проводить, как описано, например, в Ed Harlow и David Lane, *Cold Spring Harb Protoc*; 2006; doi:10.1101/pdb.prot4277 или в главе 11 "Using Antibodies" by Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., USA 1999. Конкурентные антитела связываются с тем же самым эпитопом, перекрывающимся эпитопом или со смежными эпитопами (например, как доказано путем стерического препятствия). Другие анализы конкурентного связывания включают твердофазный прямой и непрямой радиоиммунологический анализ (РИА), твердофазный прямой и непрямой ферментативный иммунологический анализ (EIA), конкурентный сэндвич-анализ (см. Stahli et al., *Methods in Enzymology* 9:242 (1983)); твердофазный прямой биотин-авидиновый EIA (см. Kirkland et al., *J. Immunol.* 137:3614 (1986)); твердофазный прямой анализ с меткой, твердофазный прямой сэндвич-анализ с меткой (см. Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988)); твердофазный прямой РИА с меткой с использованием метки I-125 (см. Morel et al., *Mol. Immunol.* 25(1):7 (1988)); твердофазный прямой биотин-авидиновый EIA (Cheung et al., *Virology* 176:546 (1990)); и прямой РИА с меткой (Moldenhauer et al., *Scand. J. Immunol.* 32:77 (1990)).

Как применяют в настоящем документе, "специфически связывается" в отношении антигена или молекулы, такой как FXI, относится к предпочтительной ассоциации антитела или другого лиганда, целиком и частично, с FXI, а не с другими молекулами, в частности, с молекулами, находящимися в крови или сыворотке человека. Антитела, как правило, специфически связываются с распознанным антигеном с высокой аффинностью, которая отражена в константе диссоциации (K_D) от 10^{-7} до 10^{-11} М или менее. Любая K_D больше чем приблизительно 10^{-6} М, как правило, рассматривается как указание на неспецифическое связывание. Как применяют в настоящем документе, антитело, которое "специфически связывается" с антигеном относится к антителу, которое связывается с антигеном и по существу идентичными антигенами с высокой аффинностью, т.е. с K_D 10^{-7} М или меньше, в конкретных вариантах осуществления с K_D 10^{-8} М или меньше, или 5×10^{-9} М или меньше, или между 10^{-8} М и 10^{-11} М или меньше, но не связывается с высокой аффинностью с неродственными антигенами. Кинетику связывания можно определять путем поверхностного плазмонного резонанса, как описано в примере 1 в настоящем документе.

Антиген "по существу идентичный" относится к данному антигену, если он демонстрирует высокую степень идентичности аминокислотных последовательностей с данным антигеном, например, если он демонстрирует по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% или большую идентичность аминокислотных последовательностей с аминокислотной последовательностью данного антигена. В качестве примера, антитело, которое специфически связывается с человеческим FXI может также перекрестно реагировать с FXI от определенных не принадлежащих к человеку видов приматов (например, яванского макака), но не может перекрестно реагировать с FXI из других видов, или с антигеном, иным чем FXI.

Как применяют в настоящем документе, "выделенная молекула нуклеиновой кислоты" означает геномную ДНК или РНК, мРНК, кДНК, или синтетического происхождения или какую-то их комбинацию, которая не связана с полинуклеотидом или его частью, в котором выделенный полинуклеотид находится в природе, или связана с полинуклеотидом, с которым не связана в природе. Для целей настоящего описания, следует понимать, что "молекула нуклеиновой кислоты, содержащая" конкретную нуклеотидную последовательность не включает интактные хромосомы. Выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, "содержащие" определенные последовательности нуклеиновой кислоты, могут включать, в дополнение к определенным последовательностям, кодирующие последовательности до десяти или даже до двадцати и

более белков или их частей или фрагментов, или могут включать функционально связанные регуляторные последовательности, которые контролируют экспрессию кодирующей области упомянутых последовательностей нуклеиновой кислоты, и/или могут включать векторные последовательности.

Как применяют в настоящем документе, "лечить" или "лечение" относится к введению внутренне или наружно терапевтического средства, такого как композиция, содержащее любое из антител или их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению, индивидууму или пациенту с одним или несколькими симптомами заболевания или у которого предполагают наличие заболевания, для которого средство имеет терапевтическую активность или профилактическую активность. Как правило, средство вводят в количестве, эффективном для облегчения одного или нескольких симптомов заболевания у индивидуума или популяции, которых лечат, или за счет вызывания регрессии или ингибирования прогрессирования такого симптома/симптомов на любую клинически измеримую степень. Количество терапевтического средства, которое является эффективным для облегчения любого конкретного симптома заболевания, может варьировать в соответствии с такими факторами, как состояние болезни, возраст, и масса пациента, и свойство лекарственного средства вызывать желаемый ответ у индивидуума. Будет ли облегчаться синдром заболевания можно оценивать при помощи любого клинического измерения, как правило, используемого терапевтами или другими квалифицированными медицинскими работниками для оценки тяжести или статуса прогрессирования этого симптома. Термин дополнительно включает отсрочку развития симптомов, ассоциированных с нарушением, и/или снижение тяжести симптомов такого нарушения. Термины дополнительно включают улучшение существующих неконтролируемых или нежелательных симптомов, профилактику дополнительных симптомов, и улучшение или профилактику первопричин таких симптомов. Таким образом, термины означают, что был достигнут благоприятный результат у человека или животного с нарушением, заболеванием или симптомом, или с потенциалом к развитию такого нарушения, заболевания или симптома.

Как применяют в настоящем документе, "лечение" в применении к человеку или объекту ветеринарии, относится к терапевтическому лечению, а также диагностическим применениям. "Лечение" в применении к человеку или объекту ветеринарии, включает контакт антител или антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению с человеком или животным.

Как применяют в настоящем документе, "терапевтически эффективное количество" относится к количеству конкретного вещества, достаточного для достижения желаемого эффекта у индивидуума, которого лечат. Например, это может быть количество, необходимое для ингибирования активации FXI или количество, необходимое для ингибирования свертывания в течение по меньшей мере от 192 до 288 ч, как определено путем анализа АЧТВ. При введении индивидууму будет в основном использоваться доза, которая достигает концентраций в ткани-мишени, для которых было показано достижение желаемого эффекта *in vitro*.

Как применяют в настоящем документе, "тромбоз" относится к образованию или наличию сгустка (также называемого "тромб") внутри кровеносного сосуда, препятствуя току крови через систему циркуляции. Тромбоз, как правило, вызван нарушениями в составе крови, качестве сосудистой стенки и/или природе кровотока. Образование сгустка часто вызвано повреждением сосудистой стенки (такой как травма или инфекция) и замедлением или остановкой кровотока после точки повреждения. В некоторых случаях тромбоз вызывают нарушения свертывания.

Как применяют в настоящем документе, "без нарушения гемостаза" означает, что у индивидуума или пациента наблюдают незначительное кровотечение или отсутствие выявляемого кровотечения после введения индивидууму или пациенту антитела или фрагмента антитела, описываемого в настоящем документе. В случае, когда мишенью является фактор XI, ингибирование превращения фактора XI в фактор XIa или активации фактора IX фактором XIa ингибирует свертывание и связанный с ним тромбоз без кровотечения. Напротив, ингибирование превращения или активности фактора XI ингибирует свертывание, но также вызывает кровотечение или повышает риск кровотечения.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1A и 1B показывают каскад свертывания, FXI, МАТ к FXI и четыре новых пероральных антикоагулянта (НПАК). Фиг. 1A представляет собой рисунок, показывающий FXI в каскаде свертывания (который состоит из внутреннего и внешнего путей). МАТ, нацеленное на FXI может оказывать функциональную нейтрализацию путем блокирования активации FXI посредством XIIa и/или тромбина, или воздействия FXIa на FIX. Антитела в настоящем документе могут оказывать двойную блокаду на FXIa-опосредованную активацию FIX, и превращение FXI в FXIa, опосредованное, по меньшей мере, FXIIa. Показаны четыре НПАК (ривароксабан, аписабан, эдоксабан, дабигатран), нацеленные или на FXa или на тромбин. Фиг. 1B показывает доменную структуру FXI. FXI представляет собой димер, состоящий из идентичных субъединиц по 80 кДа, и каждая субъединица, начиная с N-конца состоит из четырех доменов apple (1, 2, 3, и 4) и каталитического домена (CAT). Антитела, описываемые в настоящем документе, связываются с доменом apple 3.

На фиг. 2 представлена структура фактора XI и домена apple 3 с пептидами, защищенными от деградирования, посредством идентифицированных антител к FXI из семейства α FXI-18611 и α FXI-18623p. Показан остаток аргинина 184, критический остаток в наружном сайте связывания FIX. Пептиды

в домене Apple 3 с отсутствием различий по дейтерированию показаны светло-серым. Пептиды, для которых отсутствуют данные, показаны темно-серым. Каталитический домен не показан.

Фиг. 3А и 3В показывают карту интенсивности различий мечения дейтерием аминокислотных остатков FXI, связавшихся с антителами к FXI α FXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC каппа и α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC каппа соответственно.

Фиг. 4А, 4В и 4С показывают аминокислотную последовательность доменов HC и LC антител семейства α FXI 18611p и α FXI 18611. CDR тяжелой цепи и легкой цепи идентифицированы как HC-CDR1, HC-CDR2, HC-CDR3, LC-CDR1, LC-CDR2, и LC-CDR3 соответственно.

Фиг. 5А и 5В показывают аминокислотную последовательность доменов HC и LC антител семейства α FXI 18623p. CDR тяжелой цепи и легкой цепи идентифицированы как HC-CDR1, HC-CDR2, HC-CDR3, LC-CDR1, LC-CDR2, и LC-CDR3 соответственно.

На фиг. 6 представлены результаты анализа активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) α FXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC каппа (А) и α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC каппа (В) в плазме человека, выраженные в виде % увеличения от исходного уровня.

На фиг. 7 представлены результаты анализа активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) α FXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC каппа (А) и α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC каппа (В) в плазме яванского макака, выраженные в виде % увеличения от исходного уровня.

На фиг. 8 представлены результаты анализа активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) α FXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC каппа (А) и α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC каппа (В) в плазме макака резус, выраженные в виде % увеличения от исходного уровня.

На фиг. 9 представлено сравнение результатов АЧТВ для α FXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC каппа в плазме человека, яванского макака и макака резус, выраженные в виде % увеличения от исходного уровня.

На фиг. 10 представлено сравнение результатов АЧТВ для α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC каппа в плазме человека, яванского макака и макака резус, выраженные в виде % увеличения от исходного уровня.

На фиг. 11 представлены сенсограммы BIAcore, которые показывают кинетику связывания α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа с FXI человека, яванского макака и макака резус и с другими белками каскада свертывания человека и NHP.

На фиг. 12 представлены сенсограммы BIAcore, которые показывают кинетику связывания α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC Каппа с FXI человека, яванского макака и макака резус и с другими белками каскада свертывания человека и NHP.

На фиг. 13 представлена схематическая тестовая модель артерио-венозного шунта (AB) у яванского макака.

Анестезированным обезьянам с предварительно установленными катетерами в бедренную артерию и вену вводили носитель или α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа (антитело) в количестве 0,01-1,0 мг/кг путем внутривенного струйного введения (введение тестируемого препарата). АВ-шунт вставляли, как описано в тексте (вставка АВ-шунта). Кровь протекала через АВ-шунт в течение 40 мин. Контакт между кровью и шелковой нитью, подвешенной внутри трубки, вызывал формирование сгустка. Сгустки взвешивали, как описано в тексте. Получали образцы крови для измерения уровней циркулирующего антитела, АЧТВ и РТ (звездочки).

Фиг. 14А-14D показывают воздействие α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа (антитело) на формирование сгустка в АВ-шунте, АЧТВ и РТ на модели АВ-шунта у яванского макака. Фиг. 14А, Масса сгустка, измеренная после двух последовательных АВ-шунтов у одного и того же животного. Животным вводили носитель во время первого шунта (шунт #1), с последующим введением антитела (0,01-1,0 мг/кг в/в), как показано во время второго шунта (шунт #2). Повышающиеся дозы антитела привели к образованию более мелких сгустков. Процент ингибирования массы сгустка (фиг. 14В) и процент изменения АЧТВ (фиг. 14С) повысились с повышением концентрации антитела в плазме. Напротив, РТ (фиг. 14D) оставался относительно неизменным при всех концентрациях антитела.

На фиг. 15 представлена схема шаблонной модели времени кровотечения у яванского макака. Шаблонное время кровотечения на слизистой щеки (внутренняя губа), подушечке пальца и кончике хвоста определяли у анестезированных яванский макак на исходном уровне (до лечения) и после введения Лечения#1 (носитель) и Лечения#2 (носитель или α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа, 10 мг/кг в/в). Образцы крови для измерения циркулирующих уровней α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа, АЧТВ и РТ собирали, как показано.

Фиг. 16А-16F показывают воздействия α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа на шаблонное время кровотечения, измеренное у яванских макак. Шаблонное время кровотечения измеряли в слизистой щеки (фиг. 16А, 16D), подушечке пальца (фиг. 16В, 16Е) и кончике хвоста (фиг. 16С, 16F). Воздействия лечения (α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа по сравнению с носителем) на время кровотечения оценивали, сравнивая абсолютное время кровотечения (левые панели) и процент изменения во времени кровотечения (правые панели), с носителем-носителем в виде Лечений #1 и 2 в исследователь-

ской сессии #1, и носитель- α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа в виде Лечений #1 и 2 в исследовательской сессии #2, с использованием одностороннего парного t-критерия Стьюдента.

Фиг. 17А показывает профили концентрация-время после в/в введения макакам резус α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC каппа. Представлены профили концентрация-время в плазме для α FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC каппа у макак резус. В группе для каждой дозы было по четыре животных. Каждая линия отражает среднее для конкретной группы.

Фиг. 17В показывает профили АЧПВ-время у макак резус, профили АЧПВ-время для α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC каппа представлены для группы с каждой дозой. В группе для каждой дозы было по четыре животных. Каждый символ представляет индивидуальный профиль АЧПВ-время животного в каждый момент времени. Каждая линия отражает среднее для конкретной группы.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к антителам к фактору свертывания XI, которые связываются с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI). Эти антитела к FXI представляют собой ингибиторы активации FXI фактором XIIa и подходят для ингибирования свертывания крови и связанного с ним тромбоза без нарушения гемостаза (противотромботические показания). Например, антитела к FXI можно использовать для лечения и профилактики венозной тромбоэмболии (ВТЭ), профилактики инсульта при фибрилляции предсердий (SPAF) или лечения и профилактики определенных тромбоэмболических нарушений, связанных с медицинскими устройствами (например, стентами, внутрисосудистыми стентами-трансплантатами, катетерами (сердечными или венозными), вспомогательными желудочковыми системами с непрерывным потоком (CF-LVADS), гемодиализом, аппаратом искусственного кровообращения и экстракорпоральной мембранной оксигенацией (ECMO), вспомогательными желудочковыми системами (VADS)). Таким образом, антитела к FXI, описываемые в настоящем документе, подходят для терапии для лечения тромбоэмболического нарушения или заболевания у пациента или индивидуума, который нуждается в такой терапии.

FXI представляет собой гомодимерную сериновую протеазу, которая имеет доменную структуру, показанную на фиг. 1В и является неотъемлемым компонентом внутреннего пути каскада свертывания. Зимоген FXI может расщепляться фактором XIIa до его активированной формы FXIa. FXIa затем активирует фактор IX и в конечном счете запускает образование тромбина и формирование сгустка. Антитела к FXI, описываемые в настоящем документе, ингибируют превращение FXI в FXIa (См. фиг. 1А).

Молекулы антитела к FXI получали из библиотеки полностью человеческого синтетического IgG1/каппа, расположенной на поверхности сконструированных штаммов дрожжей. Проводили скрининг библиотеки при помощи FXI или FXIa для выявления антител, способных связываться с человеческим FXI с субнаномолярной аффинностью к человеческому FXI и FXI не являющегося человеком примата (NHP) и не связывающихся с человеческим и NHP калликреином плазмы (белок, демонстрирующий 56% аминокислотную идентичность с FXI), или с другими человеческими белками каскада свертывания (FII/IIa, FVII/VIIa, FIX/IXa, FX/Xa и FXII/XIIa). Были идентифицированы два антитела с такими свойствами: α FXI-18611p и α FXI-18623p. Эти антитела представляли собой полностью человеческие антитела, содержащие человеческую легкую цепь каппа (κ) и человеческую тяжелую цепь изотипа IgG1 (γ 1). Антитела селективно связываются с эпитопом зимогена FXI, включающим SEQ ID NO:82 и 83, расположенные в домене apple 3 FXI. Эти антитела также связываются с FXIa с аффинностью, сравнимой с аффинностью для зимогена FXI.

Антитела из семейства α FXI-18611p содержат определяющие комплементарность области (CDR) 1, 2, и 3 тяжелой цепи (HC) с аминокислотными последовательностями, показанными в SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, и SEQ ID NO:3, соответственно, и CDR I, 2, и 3 легкой цепи (LC) с аминокислотными последовательностями, показанными в SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, и SEQ ID NO: 7 соответственно. Семейство α FXI-18611p включает антитела, содержащие варибельный домен тяжелой цепи (HC), содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 21 или 22, и варибельный домен легкой цепи (LC), содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 25.

Антитела из семейства α FXI-18611 содержат определяющие комплементарность области (CDR) 1, 2, и 3 тяжелой цепи (HC) с аминокислотными последовательностями, показанными в SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, и SEQ ID NO: 4 соответственно, и CDR 1, 2 и 3 легкой цепи (LC) с аминокислотными последовательностями, показанными в SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7 соответственно. Семейство α FXI-18611 включает антитела, содержащие варибельный домен тяжелой цепи (HC), содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 23 или 24, и варибельный домен легкой цепи (LC), содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 25.

Антитела из семейства α FXI-18623p содержат CDR 1, 2, и 3 HC с аминокислотными последовательностями, показанными в SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO:10 соответственно, и CDR 1, 2 и 3 LC с аминокислотными последовательностями, показанными в SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO: 13 соответственно. Семейство α FXI-13716p включает антитела, содержащие варибельный домен тяжелой цепи (HC), содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 28 или 29, и варибельный домен легкой цепи (LC), содержащий аминокислотную последовательность из SEQ

ID NO: 30. Антитела этого семейства получали из другой линии, чем предыдущие семейства.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителам к FXI, содержащим по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и к способам применения антител для лечения противотромботических показаний, например SPAF.

В конкретных аспектах антитела к FXI содержат, по меньшей мере, переменный домен HC антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p или его вариант, где переменный домен HC содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В конкретных аспектах антитела к FXI содержат, по меньшей мере, переменный домен LC антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p или его вариант, где переменный домен LC содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В конкретных аспектах антитела к FXI содержат, по меньшей мере, переменный домен HC антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p или его вариант, где переменный домен HC содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, и переменный домен LC антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p или его вариант, где переменный домен LC содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В конкретных вариантах осуществления антитела в настоящем документе содержат, по меньшей мере, шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания и дополнительно содержат тяжелую цепь (HC), которая относится к изотипу IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4 человека, и легкую цепь (LC), которая может быть типа каппа или типа лямбда. В других вариантах осуществления антитела в настоящем документе содержат по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и дополнительно могут относиться к классу IgM, IgD, IgA, или IgE. В конкретных вариантах осуществления изотип IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4 человека может включать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В конкретных вариантах осуществления антитела могут содержать по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и дополнительно содержать константный домен HC, который относится к изотипу IgG4. Каркас IgG4 обеспечивает антителу незначительную эффекторную функцию или ее отсутствие. В дополнительном аспекте по изобретению антитела могут содержать по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и дополнительно содержать константный домен HC, который относится к изотипу IgG4, слитый с переменным доменом HC, который относится к изотипу IgG1. В дополнительном аспекте по изобретению антитела могут содержать, по меньшей мере, переменный домен HC и переменный домен LC из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты, где переменные домены HC и LC независимо содержат 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, и дополнительно содержать константный домен HC, который относится к изотипу IgG4. В дополнительном аспекте по изобретению, антитела могут содержать, по меньшей мере, переменный домен HC и LC из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты, где HC и LC независимо содержат 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, и дополнительно содержать константный домен HC, который относится к изотипу IgG4.

Антитела по настоящему изобретению дополнительно включают, но не ограничиваются ими, моноклональные антитела (в том числе полноразмерные моноклональные антитела), поликлональные антитела, полиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), бипаратопные антитела, полностью человеческие антитела и химерные антитела.

В основном, аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела, такого как IgG1 или IgG4, имеет лизин на С-конце константного домена тяжелой цепи. В некоторых случаях для улучшения однородности продукта антитела можно получать антитело без С-концевого лизина. Антитела к FXI по настоящему изобретению включают варианты осуществления, в которых С-концевой лизин присутствует, и варианты осуществления, в которых С-концевой лизин отсутствует. Например, константный домен

НС IgG1 может иметь аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:18 или 19, и константный домен НС IgG4 может иметь аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:16 или 17.

В конкретных вариантах осуществления N-концевая аминокислота НС может быть остатком глутамина. В конкретных вариантах осуществления N-концевая аминокислота НС может быть остатком глутаминовой кислоты. В конкретных аспектах, N-концевая аминокислота модифицирована в остаток глутаминовой кислоты.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антигенсвязывающим фрагментам против FXI, которые содержат по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к Fab-фрагментам к FXI, которые содержат по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителам к FXI, которые содержат, по меньшей мере, шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и к их антигенсвязывающим фрагментам, которые содержат Fc-область, и к способам их применения.

Настоящее изобретение дополнительно относится к фрагментам Fab' к FXI, которые содержат, по меньшей мере, шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к $F(ab')_2$ к FXI, которые содержат, по меньшей мере, шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к Fv-фрагментам к FXI, которые содержат, по меньшей мере, шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к фрагментам scFv к FXI, которые содержат, по меньшей мере, шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к доменным антителам к FXI, которые содержат, по меньшей мере, три CDR НС или три CDR LC из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из CDR НС или LC имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания. В варианте осуществления изобретения, доменное антитело представляет собой однодоменное антитело или нанотело. В варианте осуществления изобретения, доменное антитело представляет собой нанотело, содержащее, по меньшей мере, CDR из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к бивалентным антителам FXI, которые содержат по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к биспецифическим антителам и антигенсвязывающим фрагментам, имеющим специфичность связывания к FXI и другому интересующему антигену, и к способам их применения.

Бипаратопные антитела представляют собой антитела со специфичностью связывания к различным эпитопам на одном и том же антигене. Настоящее изобретение дополнительно относится к бипаратопным антителам с первой парой тяжелая/легкая цепь из первого антитела, которое содержит по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и второй парой тяжелая/легкая цепь из второго антитела со специфичностью к эпитопу FXI, который отличается от эпитопа, распознаваемого первой парой тяжелая/легкая цепь.

Настоящее изобретение дополнительно относится к антителам к FXI и их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим первую пару тяжелая/легкая цепь из антитела, которое содержит по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p или семейства α FXI-18611 или их варианты осуществления, где одна или более из CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и вторую пару тяжелая/легкая цепь из антитела, которое содержит по меньшей мере шесть CDR из антитела семейства α FXI-18623p или их варианты осуществления, где одна или более из CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к диатам к FXI, которые содержат по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания.

Антитело, которое содержит по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, можно модифицировать некоторым образом, так что оно сохраняет по меньшей мере 10% от активности связывания с FXI (по сравнению с родительским антителом, т.е., антителом из соответствующего семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p), при этом его активность выражена в молях. Предпочтительно антитело или антигенсвязывающий фрагмент по изобретению сохраняют по меньшей мере 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% или 100% или более аффинности связывания к FXI, по сравнению с родительским антителом. Также подразумевается, что антитело или антигенсвязывающий фрагмент по изобретению может включать консервативные или неконсервативные аминокислотные замены (упоминаемые как "консервативные варианты" или "функционально консервативные варианты" антитела), которые по существу не изменяют его биологическую активность.

Настоящее изобретение дополнительно относится к выделенным антителам к FXI, которые содержат по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и к их антигенсвязывающим фрагментам и к способам их применения, а также к их выделенным полипептидным цепям иммуноглобулина и к выделенным полинуклеотидам, кодирующим такие полипептиды, и к выделенным векторам, содержащим такие полинуклеотиды.

Настоящее изобретение дополнительно относится к моноклональным антителам к FXI, которые содержат по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и к их антигенсвязывающим фрагментам, а также моноклональным композициям, содержащим множество выделенных моноклональных антител.

Настоящее изобретение дополнительно относится к химерным антителам к FXI, которые содержат по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания.

Настоящее изобретение относится к полностью человеческим антителам к FXI, которые содержат, по меньшей мере, шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания и к их антигенсвязывающим фрагментам и к способам их применения. В варианте осуществления изобретения полностью человеческое антитело к FXI или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой продукт, выделенный из трансгенного животного, например, мыши (например, мыши HUMAB, см. например, патенты США №№ 5545806; 5569825; 5625126; 5633425; 5661016; 5770429; 5789650; 5814318; 5874299 и 5877397; и Harding, et al., (1995) Ann. NY Acad. Sci. 764:536-546; или XENOMOUSE, см. например, Green et al., 1999, J. Immunol. Methods 231:11-23), которая была генетически модифицирована для получения полного набора генов иммуноглобулина человека; или продукт, выделенный из фага или вируса, который экспрессирует цепи иммуноглобулина из полностью человеческого антитела к FXI или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления разные константные домены могут быть добавлены к областям V_L и V_H , полученным из CDR, предложенных в настоящем документе. Например, если конкретное целевое применение антитела (или фрагмента) по настоящему изобретению должно вызывать изменение эффекторных функций, можно использовать константный домен тяжелой цепи, иной чем у человеческого IgG1, или можно использовать гибрид IgG1/IgG4.

Хотя человеческие антитела IgG1 обеспечивают долгое полувыведение и эффекторные функции, такие как активация комплемента и антителозависимая клеточная цитотоксичность, такие свойства могут быть желательны не для всех применений антитела. В таких случаях, например, можно использовать

константный домен человеческого IgG4. Настоящее изобретение относится к антителам к FXI и их антигенсвязывающим фрагментам, которые содержат константный домен IgG4, например, антагонистические человеческие антитела к FXI и фрагменты, и к способам их применения. В одном из вариантов осуществления константный домен IgG4 может отличаться от нативного константного домена человеческого IgG4 (Номер доступа в Swiss-Prot P01861.1) по положению, соответствующему положению 228 в системе EU и положению 241 в системе KABAT, где нативный серин в положении 108 (Ser108) константного домена HC замещен пролином (Pro), для того чтобы предотвратить потенциальную внутрицепочечную дисульфидную связь между цистеином в положении 106 (Cys106) и цистеином в положении 109 (Cys109), что соответствует положениям Cys226 и Cys229 в системе EU и положениям Cys239 и Cys242 в системе KABAT), что может препятствовать надлежащему образованию внутрицепочечной дисульфидной связи. См. Angal et al. *Mol. Immunol.* 30:105 (1993); см. также (Schuurman et. al., *Mol. Immunol.* 38: 1-8, (2001); SEQ ID NO:14 и 41). В других случаях можно использовать модифицированный константный домен IgG1, который был модифицирован для снижения эффекторной функции, например, изотип IgG1 может включать замены остатками IgG2 в положениях 233-236 и остатками IgG4 в положениях 327, 330 и 331 для большего снижения ADCC и CDC (Armour et al., *Eur J Immunol.* 29 (8): 2613-24 (1999); Shields et al., *J Biol Chem.* 276 (9):6591-604 (2001)). В другом варианте осуществления HC IgG модифицирована для отсутствия N-гликозилирования остатка аспарагина (Asn) приблизительно в положении 297. Консенсусная последовательность для N-гликозилирования представляет собой Asn-Xaa-Ser/Thr (где Xaa является любой аминокислотой, кроме Pro); в IgG1 консенсусная последовательность для N-гликозилирования представляет собой Asn-Ser-Thr. Модификацию можно производить, замещая кодон для Asn в положении 297 в молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей HC, кодоном для другой аминокислоты, например Gln.

Альтернативно, кодон для Ser может быть замещен кодоном для Pro, или кодон для Thr может быть замещен любым кодоном, за исключением кодона для Ser. Такие модифицированные молекулы IgG1 имеют незначительную эффекторную функцию, или она отсутствует. Альтернативно, все три кодона являются модифицированными.

В варианте осуществления изобретения антитела к FXI, которые содержат по меньшей мере шесть CDR из антитела к FXI из семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, имеют полную тетрамерную структуру с двумя легкими цепями и двумя тяжелыми цепями, включающими константные области. Вариабельные области каждой пары легкая/тяжелая цепь образуют участок связывания антитела. Таким образом, как правило, интактное антитело имеет два участка связывания. За исключением биспецифических антител два участка связывания, как правило, одинаковые.

В конкретных вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к антителам к FXI, показанным в табл. 1.

Таблица 1

Семейство	Антитело	Тяжелая цепь (HC) SEQ ID NO:	Легкая цепь (LC) SEQ ID NO:
α FXI-18611p	α FXI-18611p IgG4 HC (S228P) (Q1) (M105)/LC каппа	33	26
	α FXI-18611p IgG4 HC (S228P) (E1) (M105)/LC каппа	35	26
	α FXI-18611p IgG1 HC (Q1) (M105)/LC каппа	45	26
	α FXI-18611p IgG1 HC (E1) (M105)/LC каппа	47	26
	α FXI-18611p IgG4 HC (S228P) (Q1) (M105) (K-)/LC каппа	57	26
	α FXI-18611p IgG4 HC (S228P) (E1) (M105) (K-)/LC каппа	59	26
	α FXI-18611p IgG1 HC (Q1) (M105) (K-)/LC каппа	69	26
	α FXI-18611p IgG1 HC (E1) (M105) (K-)/LC каппа	71	26
α FXI-18611	α FXI-18611 IgG4 HC (S228P) (Q1) (L105)/LC каппа	37	26
	α FXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC каппа	39	26
	α FXI-18611 IgG1 HC (Q1) (L105)/LC каппа	49	26
	α FXI-18611 IgG1 HC (E1) (L105)/LC каппа	51	26
	α FXI-18611 IgG4 HC (S228P) (Q1) (L105) (K-)/LC каппа	61	26
	α FXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105) (K-)/LC каппа	63	26
	(S228P) (E1) (L105) (K-)/LC каппа		
	α FXI-18611 IgG1 HC (Q1) (L105) (K-)/LC каппа	73	26
	α FXI-18611 IgG1 HC (E1) (L105) (K-)/LC каппа	75	26
α FXI-18623p	α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC каппа	41	31
	α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC каппа	43	31
	α FXI-18623p IgG1 HC (Q1)/LC каппа	53	31
	α FXI-18623p IgG1 HC (E1)/LC каппа	55	31
	α FXI-18623p IgG1 HC (S228P) (Q1) (K-)/LC каппа	65	31
	α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1) (K-)/LC каппа	67	31
	α FXI-18623p IgG1 HC (Q1) (K-)/LC каппа	77	31
	α FXI-18623p IgG1 HC (E1) (K-)/LC каппа	79	31

Картирование эпитопов путем масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена (HDX-MS), как описано в примере 3, показало, что антитела к FXI, содержащие указанные выше CDR HC и LC связываются с конкретным эпитопом на домене apple 3, содержащем SEQ ID NO: 82 и SEQ ID NO: 83.

Таким образом, антитела, описываемые в настоящем документе, связываются с доменом apple 3 FXI

и ингибируют активацию FXI посредством FXIIa, а также ведут себя как аллостерические конкурентные ингибиторы активации FIX путем FXIa. Результаты картирования эпитопов указывают на то, что "область узнавания" семейства α FXI-18623p на Apple 3 перекрывается с FIX-связывающим экзосайтом в FXIa.

Фармацевтические композиции и введение

Для приготовления фармацевтических или стерильных композиций антитела к FXI или его связывающего фрагмента, антитело или его антигенсвязывающие фрагменты смешивают с фармацевтически приемлемым носителем или эксципиентом. См., например, Remington's Pharmaceutical Sciences и U.S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984) и постоянно обновляемую в Интернет Фармакопейную конвенцию США (USP) 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, MD 20852-1790, USA.

Составы терапевтических и диагностических средств можно получать смешиванием с приемлемыми носителями, эксципиентами или стабилизаторами в форме, например, лиофилизированных порошков, густых суспензий, водных растворов или суспензий (см., например, Hardman, et al. (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams and Wilkins, New York, NY; Avis, et al. (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, NY).

В дополнительном варианте осуществления композицию, содержащую антитело или фрагмент антитела, описываемые в настоящем документе, вводят индивидууму в соответствии с Настольным справочником врача 2017 (Thomson Healthcare; 75-е издание (1 ноября 2002 г.)).

Способ введения может варьировать. Подходящим путем введения предпочтительно является парентеральный или подкожный. Другие пути введения могут включать пероральный, чресслизистый, интрадермальный, прямой внутрижелудочковый, внутривенный, интраназальный, ингаляционный, инсультационный или внутриартериальный.

В конкретных вариантах осуществления антитело к FXI или его антигенсвязывающий фрагмент можно вводить инвазивным путем, таким как инъекция. В дополнительных вариантах осуществления изобретения, антитело к FXI или его антигенсвязывающий фрагмент, или их фармацевтическую композицию можно вводить внутривенно, подкожно, внутриартериально, или путем ингализации, при помощи аэрозоля. Введение неинвазивными путями (например, перорально; например в пилюле, капсуле или таблетке) также входит в объем настоящего изобретения.

Композиции можно вводить при помощи медицинских устройств, известных в данной области. Например, фармацевтическую композицию по изобретению можно вводить путем инъекции при помощи иглы для подкожных инъекций, например, при помощи заранее заполненного шприца или автоинъектора.

Фармацевтические композиции, описываемые в настоящем документе, также можно вводить при помощи безыгольного устройства для подкожных инъекций, такого как устройства, описанные в патентах США №№ 6620135; 6096002; 5399163; 5383851; 5312335; 5064413; 4941880; 4790824 или 4596556.

Фармацевтические композиции, описываемые в настоящем документе, также можно вводить путем инфузии. Примеры хорошо известных имплантатов и модулей для введения фармацевтических композиций включают патент США № 4487603, который описывает имплантируемый микроинфузионный насос для дозирования лекарств с контролируемой скоростью; патент США № 4447233, который описывает лекарственный инфузионный насос для доставки лекарств с точной скоростью инфузии; патент США № 4447224, который описывает имплантируемый инфузионный аппарат с переменным потоком для непрерывной доставки лекарственного средства; патент США № 4439196, который описывает осмотическую систему доставки лекарственных средств с многокамерными отсеками. Специалистам в данной области хорошо известно множество других таких имплантатов, систем доставок и модулей.

Схема введения зависит от нескольких факторов, в том числе от скорости циркуляции терапевтического антитела в сыворотке или ткани, степени симптомов, иммуногенности терапевтического антитела и доступности клеток-мишеней в биологическом матриксе. Предпочтительно схема введения доставляет достаточное количество терапевтического антитела для эффективного улучшения целевого состояния болезни, с одновременной минимизацией нежелательных побочных эффектов. Таким образом, количество доставленного биологического средства частично зависит от конкретного терапевтического антитела и тяжести состояния, нуждающегося в лечении. Доступны рекомендации по выбору подходящих доз терапевтических антител (см., например, Wawrzynczak (1996) Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.) (1991) Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, NY; Bach (ed.) (1993) Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, NY; Baert et al. (2003) New Engl. J. Med. 348:601-608; Milgrom et al. (1999) New Engl. J. Med. 341:1966-1973; Slamon et al. (2001) New Engl. J. Med. 344:783-792; Beniaminovitz et al. (2000) New Engl. J. Med. 342:613-619; Ghosh et al. (2003) New Engl. J. Med. 348:24-32; Lipsky et al. (2000) New Engl. J.

Med. 343:1594-1602).

Режимы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желаемого ответа (например, терапевтического ответа). Например, можно вводить одноразовой дозой, можно вводить несколько дробных доз с течением времени или дозу можно пропорционально снижать или увеличивать, на что указывает необходимость терапевтической ситуации. Особенно выгодно составлять парентеральные композиции в стандартной лекарственной форме, чтобы облегчить введение и однородность дозы. Стандартная лекарственная форма, как применяют в настоящем документе, относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для индивидуумов, подлежащих лечению; каждая единица содержит предопределенное количество активного соединения, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Описание для стандартных лекарственных форм, описываемых в настоящем документе, продиктовано и напрямую зависит от (а) уникальных характеристик антитела или связывающего фрагмента антитела и конкретного терапевтического эффекта, который должен быть достигнут, и (b) ограничений, присущих области соединения таких активных молекул для лечения чувствительности у индивидуумов (см., например, Yang, et al. (2003) New Engl. J. Med. 349:427-434; Herold, et al. (2002) New Engl. J. Med. 346:1692-1698; Liu, et al. (1999) J. Neurol. Neurosurg. Psych. 67:451-456; Portielji, et al. (20003) Cancer Immunol. Immunother. 52:133-144).

Наборы

Далее предлагаются наборы, содержащие один или более компонентов, которые в качестве неограничивающих примеров включают, антитело к FXI или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в настоящем документе, в ассоциации с одним или несколькими дополнительными компонентами, включая в качестве неограничивающих примеров, дополнительное терапевтическое средство, описанное в настоящем документе. Антитело или фрагмент и/или терапевтическое средство можно формулировать в виде чистой композиции или в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем, в фармацевтической композиции.

В одном из вариантов осуществления набор включает антитело к FXI или его антигенсвязывающий фрагмент или их фармацевтическую композицию в одном контейнере (например, в стерильном стеклянном или пластиковом флаконе) и дополнительное терапевтическое средство в другом контейнере (например, в стерильном стеклянном или пластиковом флаконе).

В другом варианте осуществления набор содержит комбинацию по изобретению, включающую антитело к FXI или его антигенсвязывающий фрагмент или их фармацевтическую композицию в комбинации с одним или несколькими терапевтическими средствами, составленными вместе, необязательно в фармацевтическую композицию, в одном общем контейнере.

Если набор включает фармацевтическую композицию для парентерального введения индивидууму, набор может включать устройство для проведения такого введения. Например, набор может включать одну или более подкожных игл или другие устройства для инъекций, как указано выше. Таким образом, настоящее изобретение относится к набору, содержащему устройство для инъекций и антитело к FXI или его антигенсвязывающий фрагмент, например, где устройство для инъекций содержит антитело или фрагмент или где антитело или фрагмент находятся в отдельном резервуаре.

Набор может включать вкладыш в упаковку, в том числе информацию относительно фармацевтических композиций и лекарственных форм в наборе. В основном, такая информация помогает пациентам и терапевтам использовать приложенные фармацевтические композиции и лекарственные формы эффективно и безопасно. Например, во вкладыше может быть предоставлена следующая информация относительно комбинации по изобретению: фармакокинетика, фармакодинамика, клинические исследования, параметры эффективности, показания и применение, противопоказания, предупреждения, меры предосторожности, побочные реакции, передозировка, надлежащая дозировка и введение, форма выпуска, подходящие условия хранения, ссылки, информация производителя/дистрибьютора и патентная информация.

Способы получения антител и их антигенсвязывающих фрагментов

Антитела к FXI и их фрагменты, описываемые в настоящем документе, можно также производить рекомбинантным путем. В этом варианте осуществления нуклеиновые кислоты, кодирующие молекулы антитела, можно вставлять в вектор (плазмидный или вирусный) и трансфицировать или трансформировать клетку-хозяина, в которой их можно экспрессировать и секретировать из клетки-хозяина. Существует несколько способов, известных в данной области, которыми можно производить рекомбинантные антитела.

Клеточные линии млекопитающих, доступные в качестве хозяев для экспрессии антител или фрагментов, описываемых в настоящем документе, хорошо известны в данной области и включают множество иммortalизированных клеточных линий, имеющихся в Американской коллекции типовых культур (ATCC). Эти линии включают, в числе прочих, клетки яичника китайского хомяка (CHO), NSO, клетки SP2, клетки HeLa, клетки почки новорожденного хомяка (BHK), клетки почки обезьяны (COS), клетки печеночноклеточной карциномы человека (например, Hep G2), клетки A549, клетки 3T3, клетки эмбриональной почки человека 293 (HEK-293) и ряд других клеточных линий. Особо предпочтительные кле-

точные линии выбраны путем определения клеточных линий с высокими уровнями экспрессии. Другие клеточные линии, которые можно использовать, представляют собой клеточные линии насекомых, такие как клетки Sf9, клетки амфибий, бактериальные клетки, растительные клетки, клетки нитевидных грибов (например, *Trichoderma reesei*), и дрожжевые клетки (например, *Saccharomyces cerevisiae* или *Pichia pastoris*). В конкретных аспектах клетка-хозяин может быть прокариотической клеткой-хозяином, такой как *E. coli*.

Когда рекомбинантные экспрессирующие векторы, содержащие молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую тяжелую цепь или антигенсвязывающую часть или ее фрагмент, легкую цепь и/или ее антигенсвязывающий фрагмент, вводят в клетки-хозяева, антитела производят путем культивирования клеток-хозяев в условиях и в течение периода времени, достаточных для экспрессии антитела в клетках-хозяевах или, более предпочтительно, секретируют антитела в среду для культивирования, в которой выращивают клетки-хозяева. Антитела можно восстанавливать из среды для культивирования и дополнительно очищать или обрабатывать для получения антител по изобретению.

В конкретных аспектах клетки-хозяева трансфицируют экспрессирующим вектором, содержащим молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую HC и LC, содержащие, по меньшей мере, CDR HC и LC из антитела к FXI семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и/или где каркас вариативной области HC и/или LC содержит 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В конкретных аспектах клетки-хозяева трансфицируют первым экспрессирующим вектором, содержащим молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую HC, содержащую, по меньшей мере, CDR HC из антитела к FXI семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и/или где каркас вариативной области HC и/или LC содержит 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, и вторым экспрессирующим вектором, содержащим молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую LC, содержащую, по меньшей мере, CDR LC из антитела к FXI семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и/или где каркас вариативной области HC и/или LC содержит 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

В конкретных вариантах осуществления HC и LC экспрессируются в виде слитого белка, в котором N-конец HC и LC слиты с лидерной последовательностью, чтобы облегчить транспорт антитела по секреторному пути. Примеры лидерных последовательностей, которые можно использовать, включают MSVPTQVLGLLLLWLTDARC (SEQ ID NO:14) или MEWSWVFLFSLVTTGVHS (SEQ ID NO:15).

HC иллюстративных антител в настоящем документе можно кодировать молекулой нуклеиновой кислоты с нуклеотидной последовательностью, показанной в SEQ ID NO:34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78 или 80.

LC иллюстративных антител в настоящем документе можно кодировать молекулой нуклеиновой кислоты с нуклеотидной последовательностью, показанной в SEQ ID NO:27 или 32.

Настоящее изобретение дополнительно относится к плазмиде или вирусному вектору, содержащему молекулу нуклеиновой кислоты с нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO:34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78 или 80. Настоящее изобретение дополнительно относится к плазмиде или вирусному вектору, содержащему молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую HC из антитела к FXI семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и/или где каркас вариативной области HC и/или LC содержит 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, и молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую LC из антитела к FXI семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и/или где каркас вариативной области HC и/или LC содержит 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания.

Настоящее изобретение дополнительно относится к плазмиде или вирусному вектору, содержащему молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую HC из антитела к FXI семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, и плазмиде или вирусному вектору, содержащему молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую LC из антитела к FXI семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p.

Настоящее изобретение дополнительно относится к клетке-хозяину, содержащей одну или более плазмид или вирусных векторов, содержащих молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую HC из антитела к FXI семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции

аминокислот или их сочетания, и/или где каркас вариабельной области HC и/или LC содержит 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания, и молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую LC из антитела к FXI семейства α FXI-18611p, семейства α FXI-18611 или семейства α FXI-18623p, или их варианты осуществления, где одна или более из шести CDR имеют одну, две или три замены, вставки, делеции аминокислот или их сочетания, и/или где каркас вариабельной области HC и/или LC содержит 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, вставок, делеций аминокислот или их сочетания. В конкретных вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой клетку-хозяин CHO или НЕК-293.

Антитела можно восстанавливать из среды для культивирования при помощи стандартных способов очистки белков. Дополнительно, экспрессию антител по изобретению (или других их составных групп) из продуцирующих клеточных линий можно повышать при помощи ряда известных способов. Например, система экспрессии генов с глутаминсинтетазой (система GS) является распространенным подходом для повышения экспрессии в определенных условиях.

Как правило, гликопротеины, производимые в конкретной клеточной линии или трансгенном животном, будут иметь паттерн гликозилирования, характерный для гликопротеинов, производимых в клеточной линии или трансгенном животном (См. например, Croset et al., J. Biotechnol. 161: 336-348 (2012)). Таким образом, конкретный паттерн гликозилирования антитела будет зависеть от конкретной клеточной линии или трансгенного животного, использованного для получения антитела. Однако, все антитела, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, предлагаемыми в настоящем документе, или содержащие аминокислотные последовательности, предлагаемые в настоящем документе, составляют данное изобретение, независимо от паттерна гликозилирования, который могут иметь антитела.

Следующие примеры предназначены для облегчения дальнейшего понимания настоящего изобретения.

Общие способы

Стандартные способы молекулярной биологии описаны Sambrook, Fritsch and Maniatis (1982 & 1989 2nd Edition, 2001 3rd Edition) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sambrook and Russell (2001) Molecular Cloning, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) Recombinant DNA, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA). Стандартные способы также описаны у Ausbel, et al. (2001) Current Protocols in Molecular Biology, Vols. 1-4, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY, где описано клонирование в бактериальных клетках и ДНК-мутагенез (Том 1), клонирование в клетках млекопитающих и дрожжей (Том 2), гликоконъюгаты и экспрессия белков (Том 3) и биоинформатика (Том 4).

Описаны способы для очистки белков, включающие иммунопреципитацию, хроматографию, электрофорез, центрифугирование и кристаллизацию (Coligan, et al. (2000) Current Protocols in Protein Science, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York). Описаны химический анализ, химическая модификация, посттрансляционная модификация, получение слитых белков, гликозилирование белков (см., например, Coligan, et al. (2000) Current Protocols in Protein Science, Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., New York; Ausubel, et al. (2001) Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 3, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5-16.22,17; Sigma-Aldrich, Co. (2001) Products for Life Science Research, St. Louis, MO; pp. 45-89; Amersham Pharmacia Biotech (2001) BioDirectory, Piscataway, N.J., pp. 384-391). Описаны получение, очистка и фрагментация поликлональных и моноклональных антител (Coligan, et al. (2001) Current Protocols in Immunology, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York; Harlow and Lane (1999) Using Antibodies, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlow and Lane, выше). Доступны стандартные способы для характеристики взаимодействий лиганд/рецептор (см., например, Coligan, et al. (2001) Current Protocols in Immunology, Vol. 4, John Wiley, Inc., New York).

Можно получать моноклональные, поликлональные и гуманизированные антитела (см., например, Sheperd and Dean (eds.) (2000) Monoclonal Antibodies, Oxford Univ. Press, New York, NY; Kontermann and Dubel (eds.) (2001) Antibody Engineering, Springer-Verlag, New York; Harlow and Lane (1988) Antibodies A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243; Carpenter, et al. (2000) J. Immunol. 165:6205; He, et al. (1998) J. Immunol. 160:1029; Tang et al. (1999) J. Biol. Chem. 274:27371-27378; Baca et al. (1997) J. Biol. Chem. 272:10678-10684; Chothia et al. (1989) Nature 342:877-883; Foote and Winter (1992) J. Mol. Biol. 224:487-499; патент США № 6329511).

Альтернативой гуманизации является использование библиотек антител человека, расположенных на фагах, или библиотек антител человека в трансгенных мышах (Vaughan et al. (1996) Nature Biotechnol. 14:309-314; Barbas (1995) Nature Medicine 1:837-839; Mendez et al. (1997) Nature Genetics 15:146-156; Hoogenboom и Chames (2000) Immunol. Today 21:371-377; Barbas et al. (2001) Phage Display: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; Kay et al. (1996) Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual, Academic Press, San Diego, CA; de Bruin et al. (1999) Nature Biotechnol. 17:397-399).

Антитела можно конъюгировать, например, малыми лекарственными молекулами, ферментами, липосомами, полиэтиленгликолем (ПЭГ). Антитела подходят для терапевтических, диагностических набо-

ров или других целей и включают антитела, соединенные, например, с красителями, радиоактивными изотопами, ферментами или металлами, например, коллоидным золотом (см., например, Le Doussal et al. (1991) *J. Immunol.* 146:169-175; Gibellini et al. (1998) *J. Immunol.* 160:3891-3898; Hsing and Bishop (1999) *J. Immunol.* 162:2804-2811; Everts et al. (2002) *J. Immunol.* 168:883-889).

Известны способы для проточной цитометрии, в том числе активируемая флуоресценцией сортировка клеток (FACS) (см., например, Owens, et al. (1994) *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan (2001) *Flow Cytometry*, 2nd ed.; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro (2003) *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ). Доступны флуоресцентные реагенты, подходящие для модификации нуклеиновых кислот, включая праймеры и зонды для нуклеиновых кислот, полипептиды, и антитела, для применения, например, в качестве диагностических реагентов, (каталог Molecular Probes (2003), Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; каталог Sigma-Aldrich (2003), St. Louis, MO).

Описаны стандартные способы гистологии иммунной системы (см., например, Muller-Harmelink (ed.) (1986) *Human Thymus: Histopathology and Pathology*, Springer Verlag, New York, NY; Hiatt, et al. (2000) *Color Atlas of Histology*, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louis, et al. (2002) *Basic Histology: Text and Atlas*, McGraw-Hill, New York, NY).

Доступны пакеты программного обеспечения и базы данных для определения, например, антигенных фрагментов, лидерных последовательностей, фолдинга белка, функциональных доменов, участков гликозилирования и для выравнивания последовательностей (см., например, GenBank, Vector NTI® Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); DeCypher® (Time-Logic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menne, et al. (2000) *Bioinformatics* 16: 741-742; Menne et al. (2000) *Bioinformatics Applications Note* 16:741-742; Wren et al. (2002) *Comput. Methods Programs Biomed.* 68:177-181; von Heijne (1983) *Eur. J. Biochem.* 133:17-21; von Heijne (1986) *Nucleic Acids Res.* 14:4683-4690).

Человеческий зимоген FXI и FIX можно приобретать у Haematologic Technologies, Inc. Essex Junction, VT; высокомолекулярный (BM) кининоген можно приобретать у Enzyme Research Laboratories, South Bend, IN и эллаговую кислоту можно приобретать у Pacific Hemostasis, ThermoFisher, Waltham, MA.

Пример 1.

В этом примере измеряли кинетику связывания антител к FXI α FXI-18611 IgG4 HC (S228P)(E1) (L105)/LC Каппа и α FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(Q1)/LC Каппа и либо зимогена человеческого FXI, либо зимогена FXI не являющегося человеком примата (NHP), при помощи следующих анализов.

Протокол анализа кинетики связывания человеческого FXI/FXIa

Кинетику связывания и аффинность белок-белкового взаимодействия между антителами к FXI и зимогеном FXI или FXIa человека определяли с использованием ProteOn XPR36 (Bio-Rad), оптического биосенсора на основе SPR (поверхностного плазмонного резонанса) следующим образом.

Сенсорный чип с низкой плотностью GLC отмывали по всем вертикальным и горизонтальным проточным каналам 0,5% додецилсульфатом натрия, 50 mM гидроксида натрия, и 100 mM соляной кислоты в течение 60 с со скоростью потока 30 мкл/с. Поверхность альгинатного чипа для всех шести вертикальных проточных каналов (L1-L6) затем активировали IxEDC/sNHS со скоростью потока 30 мкл/с в течение 150 с. Затем инъецировали вдоль всех шести вертикальных проточных каналов мышинное поликлональное антитело, нацеленное на Fc человеческого IgG (захватывающее антитело), разведенное до 1,25 мкг/мл в 10 mM ацетата натрия, pH 5,0 в течение 300 с со скоростью потока 25 мкл/с для связывания приблизительно 300 единиц ответа (РЕ) захватывающего антитела с активированной поверхностью чипа на проточный канал путем аминной связи с эндогенным лизином. Затем 1M этаноламин HCl инъецировали вдоль всех шести вертикальных проточных каналов для нейтрализации оставшихся реактивных поверхностных аминов. Затем инъецировали антитела к FXI по 25 мкл/мин в течение 60 с, каждое в отдельный вертикальный проточный канал, покрытый захватывающим антителом (L2, L3, L4, L5, или L6), в концентрации 5 мкг/мл в 10 mM ацетат натрия, pH 5,0 для достижения насыщения уровней захвата приблизительно 80 РЕ; в вертикальный проточный канал L1 инъецировали 10 mM ацетата натрия, pH 5,0 (только буфер), в качестве референсного контроля.

После захвата антител к FXI, инъецировали буфер для прогона (1× HBS-N, 5 mM CaCl₂, 0,005% P20, pH 7,4) вдоль всех горизонтальных проточных каналов (A1-A6) в течение 5 мин и оставляли диссоциировать в течение 20 мин при 25 мкл/мин для удаления каких-либо не связавшихся антител к FXI с поверхности чипа. Для измерения скорости прямой реакции (k_a) человеческого FXI или FXa со связанными антителами к FXI, затем инъецировали 6 титров человеческого FXI или FXIa (0, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 nM, разведенного в буфере для прогона) горизонтально во все шесть вертикальных проточных каналов в течение 8 мин; связавшийся зимоген затем оставляли диссоциировать в течение 60 мин в буфере для прогона при 25 мкл/мин для измерения диссоциации (k_d). Кинетику связывания и аффинность (K_D) определяли при помощи специального программного обеспечения для прибора (Bio-Rad), и они показаны в табл. 2.

Протокол анализа кинетики связывания зимогена FXI/FXIa у не являющегося человеком примата

Кинетику связывания и аффинность белок-белкового взаимодействия между антителами к FXI и зимогеном FXI или FXIa у не являющегося человеком примата (NHP: яванский макак и макак резус) определяли с использованием ProteOn XPR36 (Bio-Rad), оптического биосенсора на основе SPR (поверхностного плазмонного резонанса).

Сенсорный чип с низкой плотностью GLC отмывали по всем вертикальным и горизонтальным проточным каналам 0,5% додецилсульфатом натрия, 50 mM гидроксида натрия, и 100 mM соляной кислоты в течение 60 с со скоростью потока 30 мкл/с. Поверхность альгинатного чипа для всех шести вертикальных проточных каналов (L1-L6) затем активировали 1×EDC/sNHS со скоростью потока 30 мкл/сек в течение 150 с. Затем инъецировали вдоль всех шести вертикальных проточных каналов мышинное поликлональное антитело, нацеленное на Fc человеческого IgG (захватывающее антитело), разведенное до 30 мкг/мл в 10 mM ацетата натрия, pH 5,0, в течение 150 с со скоростью потока 25 мкл/с для связывания приблизительно 4500 единиц ответа (РЕ) захватывающего антитела с активированной поверхностью чипа на проточный канал путем аминной связи с эндогенным лизином.

Затем 1M этаноламин HCl инъецировали вдоль всех шести вертикальных проточных каналов для нейтрализации оставшихся реактивных поверхностных аминов. Затем инъецировали антитела к FXI по 25 мкл/мин в течение 60 с, каждое в отдельный вертикальный проточный канал, покрытый захватывающим антителом (L2, L3, L4, L5, или L6), в концентрации 0,415 мкг/мл в буфере для прогона (1×HBS-N, 5 mM CaCl₂, 0,005% P20, pH 7,4), для достижения насыщения уровней захвата приблизительно 40 РЕ; в вертикальный проточный канал L1 инъецировали только буфер для прогона в качестве референсного контроля. После захвата антител к FXI, инъецировали буфер для прогона (1× HBS-N, 5 mM CaCl₂, 0,005% P20, pH 7,4) вдоль всех горизонтальных проточных каналов (A1-A6) в течение 5 мин и оставляли диссоциировать в течение 20 мин при 25 мкл/мин для удаления каких-либо не связавшихся антител к FXI с поверхности чипа. Для измерения скорости прямой реакции (k_a) NHP FXI или FXa со связанными антителами к FXI, затем инъецировали 6 титров NHP FXI или FXIa (0, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 nM, разведенного в буфере для прогона) горизонтально во все шесть вертикальных проточных каналов в течение 8 мин; связавшийся зимоген FXI или FXIa затем оставляли диссоциировать в течение 60 мин в буфере для прогона при 25 мкл/мин для измерения диссоциации (k_d). Кинетику связывания и аффинность (K_D) определяли при помощи специального программного обеспечения для прибора (Bio-Rad). Результаты показаны в табл. 2.

Таблица 2. Связывание мАТ α FXI-18623P и α FXI-18611 с FXI/XIa

Мишень		FXI		FXIa	
		Средняя аффинность		Средняя аффинность	
		$K_D \pm SD$ (nM)		$K_D \pm SD$ (nM)	
		α FXI-18611	α FXI-18623p	α FXI-18611	α FXI-18623P
Человек		100 $\pm$ 38	22, 6 $\pm$ 2, 2	55, 4 $\pm$ 12, 2	37, 4 $\pm$ 10, 4
Яванский макак		180 $\pm$ 70	13, 0 $\pm$ 5, 7	89, 2 $\pm$ 10, 4	19, 5 $\pm$ 0, 6
Макак-резус		52, 9 $\pm$ 9, 6	72, 2 $\pm$ 31, 7	175 $\pm$ 62, 6	149 $\pm$ 3, 8
α FXI-18611=HC (S228P) (E1) (L105) IgG4/LC Каппа α FXI-18611					
α FXI-18623p=HC (S228P) (Q1) IgG4/LC Каппа α FXI-18623p					

Пример 2. Воздействие антител к FXI на активацию FXI до FXIa посредством FXIa в присутствии высокомолекулярного кининогена (BM) и эллаговой кислоты

Для измерения воздействий антител к FXI α FXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC Каппа и α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC Каппа на активацию зимогена FXI, можно использовать связанные ферментативные анализы, которые измеряют FXIa-опосредованный протеолиз трипептидного флуорофора (GPR-AFC), для определения того, ингибируют ли собственно антитела активацию FXI. Для этих экспериментов, антитела к FXI предварительно инкубировали с зимогеном FXI в течение 1 ч. Активацию FXI до FXIa индуцировали добавлением FXIa в присутствии BM кининогена и эллаговой кислоты. Каталитическую активность FXIa на субстрате трипептидного флуорофора затем измеряли в качестве показателя для активации зимогена. Связанный анализ также проводили в отсутствие BM кининогена в качестве контроля. Антитела к FXI в одиннадцати разбавленных дозах, начиная с концентрации 1 мкМ с серией 3-кратных разведений, предварительно инкубировали с человеческим FXI (Haematologic Technologies, Inc., Каталожный № HCXI-0150, конечная концентрация 30 nM) и BM кининогеном (Enzyme Research Laboratories, Каталожный № НК, конечная концентрация 280 nM) в 50 mM HEPES, 150 mM

NaCl, 5 mM CaCl₂, 0,1% PEG-8000, pH 7,4 в течение 2 ч при 25°C в микропланшете Corning 3575 с несвязывающей поверхностью. Затем инициировали реакцию активации, добавляя реагент Pacific Hemostasis aPTT-XL, содержащий эллаговую кислоту (ThermoFisher Scientific, Каталожный № 100403, стоковая концентрация 100 мкМ, конечная концентрация 2 мкМ) и заново разведенный фактор свертывания XIIa (Enzyme Research Laboratories, Каталожный № HFXIIa, конечная концентрация 50 пМ). Реакцию проводили при 25°C в течение 1 ч, затем гасили добавлением 1 мкМ кукурузного ингибитора трипсина (Haematologic Technologies, Inc., Каталожный № CTI-01). Заново активированную ферментативную активность FXIa детектировали путем скорости расщепления субстрата Z-GPR-AFC (Sigma, Каталожный № C0980-10MG, конечная концентрация 150 мкМ) путем постоянного наблюдения за флуоресценцией при 400/505 нм в течение 10 мин с использованием ридера для планшетов Tecan Infinite M200. Процент ингибирования для каждой точки данных был пересчитан из данных ОФУ/минуту и проанализирован с использованием уравнения с четырьмя параметрами "log(ингибитор) по отношению к ответу" при помощи программного обеспечения GraphPad Prism. Результаты показаны в табл. 3.

Активация FXI до FXIa посредством FXIIa в отсутствие ВМ кининогена и эллаговой кислоты

Антитела к FXI в одиннадцати титрованных дозах, начиная с концентрации 1 мкМ с серией 3-кратных разведений, предварительно инкубировали с человеческим FXI (Haematologic Technologies, Inc., Каталожный № HCXI-0150, конечная концентрация 30 нМ) в 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, 5 mM CaCl₂, 0,1% PEG-8000, pH 7,4 в течение 2 ч при 25°C в микропланшете Corning 3575 с несвязывающей поверхностью. Затем инициировали реакцию активации, добавляя свежеразведенный фактор свертывания XIIa (Enzyme Research Laboratories, Каталожный № HFXIIa, конечная концентрация 15 нМ). Реакцию проводили при 25°C в течение 1 ч, затем гасили добавлением 1 мкМ кукурузного ингибитора трипсина (Haematologic Technologies, Inc., Каталожный № CTI-01). Заново активированную ферментативную активность FXIa детектировали путем скорости расщепления субстрата Z-GPR-AFC (Sigma, Каталожный № C0980-10MG, конечная концентрация 150 мкМ) путем постоянного наблюдения за флуоресценцией при 400/505 нм в течение 10 мин с использованием ридера для планшетов Tecan Infinite M200. Процент ингибирования для каждой точки данных был пересчитан из данных ОФУ/минуту и проанализирован с использованием уравнения с четырьмя параметрами "log(ингибитор) по отношению к ответу" при помощи программного обеспечения GraphPad Prism. Результаты показаны в табл. 3.

Таблица 3. Воздействие αFXI-18623p и αFXI-18611 на активацию FXI посредством FXIIa

Антитело	N	FXIIa	FXIIa
		Активация+ВМ Кининоген Ингибирование (IC ₅₀ , нМ)	Активация без ВМ кининогена Ингибирование (IC ₅₀ , нМ)
αFXI-18611	3	7, 6±3, 5	34±20
αFXI-18623p	3	6, 0±1, 1	14±9, 5
αFXI-18611=αFXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC Каппа			
αFXI-18623p=αFXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC Каппа			
IC ₅₀ приведены в виде среднего ±SD, n=3			

Вместе эти механистические исследования демонстрируют, что эти антитела к FXI функционально нейтрализуют FXI, предотвращая активацию FXI посредством FXIIa и ингибируя каталитическую активность FXIa на нативном субстрате.

Пример 3. Картирование эпитопов антител к FXI путем масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена

Области контакта αFXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC Каппа и αFXI-18623p-IgG4 (S228P) (Q1)/LC Каппа с человеческим FXI определяли с использованием анализа масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена (HDX-MS). HDX-MS измеряет встраивание дейтерия в амидный остов белка, и на изменения в его встраивании влияет воздействие водородного растворителя. Сравнение уровней обмена дейтерия в образцах только с антигеном и образцах, связавшихся с антителом, проводили для выявления областей антигена, которые могут находиться в контакте с антителом. Человеческий фактор XI имеет аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO:81. Димерный фактор XI предварительно инкубировали с антителами перед инкубацией в буфере с дейтерием. Встраивание дейтерия в фактор XI измеряли масс-спектрометрией.

Области человеческого фактора XI, защищенные антителами от дейтерирования, представляли собой Эпитоп-A DIFPNTVF (Остатки 185-192 фактора XI; SEQ ID NO:82) и Эпитоп-B PSTRIKSKALSG (Остатки 247-259 фактора XI; SEQ ID NO:83). Фиг. 3А и 3В показывают карту интенсивности различий меченых дейтерием аминокислотных остатков FXI, связавшихся с антителами αFXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC каппа и αFXI-18623p IgG4 HC (S228P)(Q1)/LC каппа соответственно. Эти аминокислотные последовательности расположены в домене Apple 3 фактора XI (фиг. 2). Не наблюдали зна-

чимых изменений в дейтерировании в Apple 1, 2, 4 или каталитическом доменах, что указывает на то, что они не участвуют в связывании с α FXI-18623. Таким образом, эпитоп, который распознается α FXI-18623p-IgG4 (S228P)/каппа содержит Эпитоп А и Эпитоп В.

Пример 4.

FIX представляет собой эндогенный белковый субстрат для FXIa, активной протеазы зимогена FXI. FXIa активирует FIX до FIXa, вновь запуская каскад свертывания. Ингибирование FXIa-опосредованной активации FIX является одним из потенциальных механизмов действия (МОА) для МАТ к FXI. Для детального исследования этого МОА были разработаны ферментативные анализы с FXIa с использованием полноразмерного зимогена FIX.

Активность протеазы FXIa на субстрате из малого трипептида

Антитела к FXI предварительно инкубировали с человеческим FXIa (Sekisui Diagnostics, Exton, PA, Каталожный № 4011A, конечная концентрация 100 нМ) в 50 мМ HEPES, 150 мМ NaCl, 5 мМ CaCl₂, 0,1% PEG-8000, pH 7,4 в течение 2 ч при 25°C в микропланшете Corning 3575 с несвязывающей поверхностью. Ферментативную активность FXIa определяли, измеряя скорость расщепления субстрата Z-GPR-AFC субстрат (Sigma, Каталожный № C0980-10MG, конечная концентрация 100 мкМ) путем постоянного наблюдения за флуоресценцией при 400/505 нм в течение 10 мин с использованием ридера для планшетов Tecan Infinite M200. Конечные концентрации одиннадцати титрационных доз антитела начинались от 1 мкМ с серией трехкратных разведений. Процент ингибирования для каждой точки данных был пересчитан из данных ОФУ/минуту и проанализирован с использованием уравнения с четырьмя параметрами "log(ингибитор) по отношению к ответу" при помощи программного обеспечения GraphPad Prism. Результаты показаны в табл. 4.

Активация FIX до FIXa посредством FXIa

FIX представляет собой эндогенный белковый субстрат для FXIa, активной протеазы зимогена FXI. FXIa активирует FIX до FIXa, вновь запуская каскад свертывания. Ингибирование FXIa-опосредованной активации FIX является одним из потенциальных механизмов действия (МОА) для МАТ к FXI. Для детального исследования этого МОА были разработаны ферментативные анализы с FXIa с использованием полноразмерного зимогена FIX.

Антитела к FXI в одиннадцати титрованных дозах, начиная с концентрации 1 мкМ с серией 3-кратных разведений, предварительно инкубировали с человеческим FXIa (Sekisui Diagnostics, Каталожный № 4011A, конечная концентрация 100 нМ) в 50 мМ HEPES, 150 мМ NaCl, 5 мМ CaCl₂, 0,1% PEG-8000, pH 7,4 в течение 2 ч при 25°C в микропланшете Corning 3575 с несвязывающей поверхностью. Реакцию активации затем инициировали добавлением FIX (Haematologic Technologies, Inc., Каталожный № HCIX-0040-C, конечная концентрация 300 нМ) и проводили при 25°C в течение 1 ч, затем реакцию гасили добавлением 100 нМ антитела к FXI, нацеленного на каталитический участок на легкой цепи FXI (антитело к FXI 076D-M007-H04, описанное в WO 2013167669). Свежеактивированную ферментативную активность FIXa детектировали по скорости расщепления субстрата циклогексил-GGR-AFC (CPC Scientific, Каталожный № 839493, конечная концентрация 300 мкМ) путем постоянного наблюдения за флуоресценцией при 400/505 нм в течение 10 мин с использованием ридера для планшетов Tecan Infinite M200. Процент ингибирования для каждой точки данных был пересчитан из данных ОФУ/минуту и проанализирован с использованием уравнения с четырьмя параметрами "log(ингибитор) по отношению к ответу" при помощи программного обеспечения GraphPad Prism. Результаты показаны в табл. 4.

Таблица 4. Воздействие α FXI-18623p и α FXI-18611 на каталитическую активность FXIa

Антитело	N	FXIa IC ₅₀ нМ (трипептидный субстрат)	FXIa IC ₅₀ нМ (нативный, полноразмерный субстрат)
α FXI-18611		>1000	1,0 $\pm$ 0,3
α FXI-18623p		>1000	0,4 $\pm$ 0,2
α FXI-18611= α FXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC Каппа α FXI-18623p= α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC Каппа IC ₅₀ приведены в виде среднего $\pm$ SD, n=3			

Как показано в табл. 4, антитела не ингибируют каталитическую активность FXIa в ферментативном анализе с использованием синтетического трипептидного флуорофорного субстрата, но оба антитела были мощными ингибиторами анализа с использованием нативного полноразмерного субстрата. Эти данные соответствуют поведению антител как аллостерических конкурентных ингибиторов активации FIX посредством FXIa, а также результатам картирования эпитопов из примера 3, предполагая, что область узнавания антител на Apple 3 перекрывается с FIX-связывающим экзосайтом на FXIa.

Пример 5. Аутоактивация FXI до FXIa на декстрансульфате

Антитела к FXI по настоящему изобретению в одиннадцати титрованных дозах, начиная с концентрации 1 мкМ с серией 3-кратных разведений, предварительно инкубировали с человеческим FXI (Haematologic Technologies, Inc., Каталожный № HCXI-0150, конечная концентрация 30 нМ) в 50 мМ HEPES, 150 мМ NaCl, 5 мМ CaCl₂, 0,1% PEG-8000, pH 7,4 в течение 2 ч при 25°C в микропланшете Corning 3575 с несвязывающей поверхностью. Реакцию аутоактивации затем инициировали добавлением декстрансульфата (ACROS, Каталожный № 433240250, приблизительная молекулярная масса 800 кДа, конечная концентрация 1 нМ). Реакцию проводили при 25°C в течение 1 ч и свежее активированную ферментативную активность FXIa детектировали по скорости расщепления субстрата Z-GPR-AFC (Sigma, Каталожный № C0980-10MG, конечная концентрация 150 мкМ) путем постоянного наблюдения за флуоресценцией при 400/505 нм в течение 10 мин с использованием ридера для планшетов Tecan Infinite M200. Процент ингибирования для каждой точки данных был пересчитан из данных ОФУ/минуту и проанализирован с использованием уравнения с четырьмя параметрами "log(ингибитор) по отношению к ответу" при помощи программного обеспечения GraphPad Prism. Результаты показаны в табл. 5.

Таблица 5. Влияние αFXI-18623p и αFXI-18611 на аутоактивацию FXI

Антитело	N	Аутоактивация FXI	
		IC ₅₀	нМ
αFXI-18611	2	3,3±0,4	
αFXI-18623p	2	5,5±4,0	
αFXI-18611=αFXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC Каппа			
αFXI-18623p=αFXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC Каппа			
IC ₅₀ приведены в виде среднего ±SD, n=3			

Пример 6.

Способность антител к FXI блокировать свертывание *in vitro* оценивали при помощи анализа активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ). Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) представляет собой тест на свертывание, который измеряет активность внутреннего и общего путей свертывания.

Анализ активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ)

Тест проводят в плазме с цитратом натрия. Человеческую плазму получали, собирая кровь у здоровых доноров обоего пола в пробирки с цитратом натрия (Sarstedt coagulation 9NC/10 мл). Кровь центрифугируют при 1500×g и собирают плазму. АЧТВ проверяют у каждого отдельного донора и отбирают тех, у кого АЧТВ находится в пределах нормального диапазона (28-40 с), делают аликвоты и хранят при -80°C. Плазму от других видов получали коммерческим путем (Innovative Research, Novi, MI). Тестируемые образцы получают, добавляя ингибиторы или носитель в плазму. Эти образцы с добавками инкубируют (60 мин, RT), затем ставят в анализатор свертывания (STA-R Evolution, Stago Diagnostica, Parsippany, NJ). В основном, анализатор проводит следующие этапы: активировать FXII добавлением эллаговой кислоты (Pacific Hemostasis, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA), а затем измеряет время образования сгустка после повторной кальцификации образца. Ингибирование FXI будет вызывать удлинение времени свертывания АЧТВ. Результаты показаны в табл. 6. Данные представлены в виде процента увеличения времени по сравнению со временем свертывания контрольного носителя, и показана концентрация, которая вызывает 100% (2×) или 50% (1,5×) увеличение времени свертывания. Результаты АЧТВ показаны на фиг. 6, 7, 8, 9 и 10.

Таблица 6

Антитело	Человек		Яванский макак		Макак резус	
	2× (нМ)	1,5 (нМ)	2× (нМ)	1,5 (нМ)	2× (нМ)	1,5 (нМ)
αFXI-18623p	24	19	21	15	22	15
αFXI-18611	37	23	218	42	79	22
αFXI-18611=αFXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC Каппа						
αFXI-18623p=αFXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC Каппа						

Пример 7. Анализ поверхностного плазмонного резонанса для оценки нецелевого связывания моноклональных антител к FXI с белками каскада свертывания человека и NHP

Использовали анализ поверхностного плазмонного резонанса (Biacore T200) для определения потенциальных нецелевых взаимодействий МАТ к фактору FXI, αFXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC Каппа и αFXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC Каппа с другими белками каскада свертыва-

ния человека и NHP (табл. 7). МАТ к FXI захватывали на сенсорный чип CM5, иммобилизованный при помощи набора для захвата против человеческого IgG (Fc) (GE Healthcare) приблизительно в количестве 500 ОЕ для минимизации потенциального фона от совместно очищенных Ig в белках, полученных из плазмы. Антитело для отрицательного контроля, моноклональное антитело (mAb) к респираторно-синцитиальному вирусу (RSV), применяли в качестве референса и для того чтобы снизить фоновое связывание белков, полученных из плазмы. Кинетику связывания измеряли с использованием аналитической концентрации FXI 5 нМ; все остальные белки каскада свертывания использовали в аналитической концентрации 500 нМ. Инъекции одиночных концентраций проводили (n=2) при 30 мкл/мин, 25°C, HBS-EP+, pH 7,4.

Таблица 7. Рекombинантные и полученные из плазмы белки каскада свертывания человека и NHP

Партия №/Каталожный №	Продавец	Общепотребительное название	Источник
00AJF	Merck, Sharp & Dohme Corp., Kenilworth, NJ USA	Калликреин плазмы макака резус	Рекombинантный белок с His-меткой на C-конце. Референсная последовательность NCBI: EHH26351
65AJE	Merck, Sharp & Dohme Corp., Kenilworth, NJ USA	Калликреин плазмы яванского макака	Рекombинантный белок с His-меткой на C-конце. Референсная последовательность NCBI: XP_005556538.1
97AJY/HPK 1302	Enzyme Research Laboratories	Прекалликреин плазмы человека	Выделен из плазмы человека
98AJY/HPKa 1303	Enzyme Research Laboratories	Калликреин плазмы человека	Выделен из плазмы человека
42ANG/HCP-0010	Haematologic Technologies Inc.	Человеческий фактор II (α -тромбин)	Выделен из плазмы человека
50AHK/HCVI I-0030	Haematologic Technologies Inc.	Человеческий фактор VII	Выделен из плазмы человека
51AH/HCVII A-0031	Haematologic Technologies Inc.	Человеческий фактор VIIa/Протеаза	Выделен из плазмы человека
38ANG/HCIIX -0040	Haematologic Technologies Inc.	Человеческий фактор IX	Выделен из плазмы человека
14AJZ/HFIX	Enzyme	Человеческий	Выделен из плазмы

a 1080	Research Laboratories	фактор IXa/Протеаза	человека
15AJZ/HFX1 010	Enzyme Research Laboratories	Человеческий фактор X	Выделен из плазмы человека
18AJZ/HFXa 1011	Enzyme Research Laboratories	Человеческий фактор Ха/Протеаза	Выделен из плазмы человека
19AJZ/HFXI I 1212	Enzyme Research Laboratories	Человеческий фактор XII	Выделен из плазмы человека
20AJZ/HFXI I 1212a	Enzyme Research Laboratories	Человеческий фактор XIIa/Протеаза	Выделен из плазмы человека
23AIR/HCXI -0150-C	Haematologic Technologies Inc.	Человеческий FXI	Выделен из плазмы человека
41AHG/HCP-0010	Haematologic Technologies Inc.	Человеческий фактор II (протромбин)	Выделен из плазмы человека
82AJK/2460 -SE	R&D	Человеческий FXI с His-меткой	Рекомбинантный белок с His-меткой на C-конце. Клеточная линия миеломы мыши, полученная из NSO. NCBI референс P03951.
23AFE	Merck, Sharp & Dohme Corp., Kenilworth, NJ USA	МАТ IgG4 к RSV	SEQ ID NO:84 (LC) и SEQ ID NO:85 (HC)

Кинетику связывания МАТ к фактору FXI, α FXI-18611 IgG4 HC (S228P) (E1) (L105)/LC Каппа и α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (Q1)/LC Каппа с FXI человека, яванского макака и макака резус и с другими белками каскада свертывания человека и NHP измеряли, как описано выше, и она показана на фиг. 11 и фиг. 12). Использовали программное обеспечение для оценки Biacore T200 для подгонки данных к модели связывания 1:1 для определения константы ассоциации, k_a ($M^{-1} \text{сек}^{-1}$, где "M" означает моль и "s" означает секунду) и константы диссоциации, k_d (s^{-1}). Эти константы скорости применяли для расчета равновесной константы диссоциации, K_D (M).

α FXI-18611 IgG4 HC (S228P)(E1) (L105)/LC Каппа и α FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(Q1)/LC Каппа, захваченные на чипе, не показали перекрестного реагирования против не-FXI белков каскада свертывания (фиг. 11 и фиг. 12). Эти моноклональные антитела показали ожидаемые уровни сильного связывания с белками FXI человека, яванского макака (и макака резус).

Пример 8. Модель тромбоза с бедренным артериовенозным (AB) шунтом у яванского макака

Противотромботическая эффективность антитела α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа была охарактеризована *in vivo* на модели бедренного артериовенозного (AB) шунта у яванского макака, разработанной в исследовательских лабораториях Merck, Sharp & Dohme Corp., Kenilworth, NJ USA и Palo Alto, CA USA.

Дизайн исследования:

Эти исследования использовали повторяющийся дизайн, где каждое животное получало 2 шунта в течение двух последовательных тестовых периодов (см. фиг. 13, Схема исследования). Обезьянам вводили носитель, не содержащий антитело (20 mM ацетат натрия, 9% сахароза, pH 5,5), или антитело α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа (интервал доз от 0,01 до 1,0 мг/кг), во время первого и второго тестовых периодов соответственно. Различия между массой сгустка, измеренной во время первой (носитель) и второй (антитело) тестовой сессий, определяло противотромботическую эффективность. То есть, большее снижение массы сгустка во время воздействия антитела α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа по сравнению с носителем указывало бы на больший противотромботический эффект. Использование вышеописанного повторяющегося парного дизайна позволяет оценить противотромботическую эффективность у животного до и после лечения.

Детали способа размещения АВ шунта:

Для выполнения этой модели анестезированным яванским макакам были установлены артериальные и венозные катетеры. Эти катетеры позволяли вставлять и удалять АВ-шунт. АВ-шунты состояли из трубки TYGON с куском шелковой нити, проходящей насквозь и подвешенной в отверстии трубки. Для размещения АВ-шунта и артериальный, и венозный катетеры закрывали для остановки кровотока. Затем АВ-шунт размещали между двумя катетерами. Время размещения и удаления катетера указано на фиг. 13. После установки шунта катетеры открывали, и кровь текла через систему шунта, контактируя с шелковой нитью. Действие крови, контактирующей с нитью, способствует формированию сгустка. АВ-шунт оставляли на месте в течение 40 мин. Для удаления АВ-шунта и артериальный, и венозный катетеры закрывали для остановки кровотока через АВ-шунт. Затем шунт удаляли и разрезали, чтобы достать шелковую нить и тромб. Тромб взвешивали. Данные представлены как масса сгустка нетто, которую определяли как общую массу сгустка минус масс шелковой нити.

Измеряли биомаркеры свертывания, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) и протромбиновое время (РТ), а также уровни циркуляции в плазме антитела α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа в образцах крови, собранных на всем протяжении эксперимента, как показано на фиг. 13. АЧТВ и РТ измеряли в размороженной (ранее замороженной до -80°C) плазме с цитратом, собранной у яванских макаков, с использованием анализатора свертывания Sta Compact Max (Stago Diagnostic, Inc). Анализатор Stago измеряет время образования сгустка при помощи электромагнитной механической системы детекции сгустка. Для анализа АЧТВ 50 мкл плазмы смешивали с 50 мкл смеси с эллаговой кислотой (aPTT-XL, Pacific Hemostasis; Fisher Diagnostics каталожный № 10-0402) при 37°C в течение 3 мин. К смеси добавляли 50 мкл 0,025М хлорида кальция (Sta- CaCl_2 0,025M, Stago Diagnostic, Inc., кат. номер 00367) и измеряли время образования сгустка. Для анализа РТ 50 мкл плазмы инкубировали при 37°C в течение 4 мин. Начало формирования сгустка было инициировано добавлением 100 мкл реагента с тромбопластином (Neoplastine Cl Plus 10, Stago Diagnostic, Inc., кат. номер 00667). Плазму измеряли следующим образом. Стандартный иммунологический анализ hIgG4 на основе электрохемилюминисценции применяли для количественной оценки антитела в плазме яванских макаков. Анализ проводили с биотинилированным козьим антителом к hIgG4(H+L) от Bethyl (кат. номер A80-319B) в качестве реагента захвата, и мышинным антителом к человеческому IgG (Fc-специфичным) с меткой sulfoTAG от Southern Biotech (кат. номер 9190-01) в качестве реагента для детекции. Этот анализ был качественным, и нижний предел количественного анализа определяли как 40 нг/мл с минимально необходимым разведением 100.

Фиг. 14A-14D обобщают воздействия введения антитела α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа на формирование тромба (фиг. 14A, 14B), АЧТВ (фиг. 14C) и РТ (фиг. 14D). Табл. 8 обобщает воздействие антитела α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа на массу сгустка на модели АВ-шунта у яванских макаков. Табл. 9 обобщает воздействие антитела α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа на АЧТВ и РТ на модели АВ-шунта у яванских макаков.

Таблица 8. Воздействие антитела α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC каппа на массу сгустка на модели АВ-шунта у яванского макака

Доза антитела (мг/кг)	Шунт #1 (Носитель)	Шунт #2 (Антитело)	% ингибирования массы сгустка	Концентрация антитела (мкг/мл)
1	772,0	1,0	100%	29,13
0,1	957,0	1,0	100%	2,42
0,01	974,0	1007,0	-3%	0,17
0,03	927,0	935,0	-1%	0,54
0,04	909,0	887,0	2%	0,79
0,05	607,0	472,0	22%	0,91
0,05	710,0	147,0	79%	1,03
0,05	688	66	90%	0,83

Таблица 9. Воздействие антитела α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC каппа на АЧТВ и РТ на модели АВ-шунта у яванского макака

Доза антитела (мг/кг)	% изменения АЧТВ	% изменения РТ	Концентрация антитела (мкг/мл)
1	143%	1%	29,13
0,1	93%	1%	2,42
0,01	4%	3%	0,17
0,03	10%	1%	0,54
0,04	5%	-2%	0,79
0,05	17%	2%	0,91
0,05	21%	0%	1,03
0,05	42%	3%	0,83

Как показано на фиг. 14А, 14В и в табл. 8, антитело α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа показало зависимое от дозы и концентрации в плазме снижение массы сгустка с полной эффективностью (90-100% уменьшения сгустка), наблюдаемое при концентрации в плазме [антитело] больше чем 1 мкг/мл (приблизительно 10 нМ). Как показано на фиг. 14С и в табл. 9, антитело показало зависимое от дозы и концентрации в плазме увеличение АЧТВ. С концентрацией в плазме 2,4 мкг/мл (~17 нМ) антитело α FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC Каппа показало 93% увеличение АЧТВ, в то время как 29 мкг/мл (~200 нМ) антитела α FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC Каппа (в наиболее высокой исследованной дозе) привело к 143% увеличению АЧТВ. В отличие от АЧТВ, как показано на фиг. 14D и в табл. 9, РТ изменилось менее чем на 10% среди оцениваемых концентраций антитела, в соответствии с избирательным воздействием ингибирования FXI на внутренний путь свертывания.

Пример 9. Модель шаблонного времени кровотечения у яванского макака

Склонность вызывать кровотечения мАТ к FXI α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа, была охарактеризована *in vivo* на модели шаблонного времени кровотечения у яванского макака, разработанной в исследовательских лабораториях Merck, Sharp & Dohme Corp., Kenilworth, NJ USA и Palo Alto, CA USA. Эта модель была ранее использована для демонстрации значимых увеличений шаблонного времени кровотечения в нескольких анатомических участках с тройной антитромбоцитарной терапией (Cai et al., Eur. J. Pharmacol. 758:107-114 (2015)).

Для использования этой модели шаблонное время кровотечения определяли с использованием пружинных ланцетов на слизистой щеки (внутренняя часть губы), подушечке пальца и кончике хвоста в различные моменты времени для индуцирования кровотечения.

Исследование времени кровотечения:

Исследование времени кровотечения проводили на анестезированных яванских макаках следующим образом.

Каждую тестируемую область (слизистую щеки, подушечку пальца или кончик хвоста) исследовали для выявления подходящих мест разреза для индуцирования кровотечения.

Для индуцирования кровотечения, пружинный ланцет помещали плотно напротив выбранного исследуемого участка и активировали для получения равномерного линейного разреза. Спецификации ланцета определяли размеры разреза.

Крови из участка разреза позволяли течь свободно и наблюдали 30 непрерывных секунд после того, как кровотечение останавливалось. Это определяет время кровотечения (ВТ). Записывали ВТ для каждого участка. Во время определения ВТ, участок разреза на конце хвоста поливали теплым стерильным раствором Рингера с лактатом, а участок подушечки пальца был погружен в теплый стерильный раствор Рингера с лактатом. Использование раствора Рингера с лактатом улучшает способность видеть поток крови из этих участков.

Дизайн исследования:

Каждое исследование включало три 30-минутных теста на шаблонное время кровотечения (ВТ) в трех исследуемых областях (см. фиг. 15, схема исследования). Первое ВТ определяло исходное кровотечение. Второе ВТ происходило через 70 мин после 3-минутного в/в вливания (4,17 мл/кг) носителя, не содержащего соединения (20 mM ацетат натрия, 9% сахароза, pH 5,5) (Лечение #1). Третье ВТ происходило через 70 мин после 3-минутного в/в вливания (4,17 мл/кг) носителя, не содержащего соединения, или α FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC Каппа (10 мг/кг) (Лечение #2). За кровотечением наблюдали и записывали время кровотечения, как описано выше. Время, когда кровотечение останавливалось, отмечали для каждого участка. Периодически собирали образцы крови для определения циркулирующих уровней в плазме антитела α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа, АЧТВ и РТ.

У каждого исследуемого животного было две сессии исследований. В сессии исследования #1, но-

ситель с последующим носителем составляли Лечение #1 и Лечение #2, соответственно. В сессии исследования #2, носитель с последующими 10 мг/кг в/в α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа составляли Лечение #1 и Лечение #2, соответственно.

Период времени в 70 мин между окончанием вливания тестируемого препарата и началом оценки времени кровотечения отражает время в модели АВ-шунта для определения массы тромба (размещение шунта через 30 мин после лечения+40 мин кровотока через шунт). Исследуемую дозу 10 мг/кг в/в α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа определяли для достижения $10\times$ прогнозируемой $C_{\max}$ человека для α FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC Каппа на основании модельных исследований ФК/ФД у приматов, описанных ранее.

Измеряли биомаркеры свертывания, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) и протромбиновое время (РТ), а также уровни циркуляции в плазме антитела α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа в образцах крови, собранных на всем протяжении эксперимента, как показано на фиг. 15. АЧТВ и РТ измеряли в размороженной (ранее замороженной до -80°C) плазме с цитратом, собранной у животных, с использованием анализатора свертывания Sta Compact Max (Stago Diagnostic, Inc). Анализатор Stago измеряет время образования сгустка при помощи электромагнитной механической системы детекции сгустка. Для анализа АЧТВ 50 мкл плазмы смешивали с 50 мкл смеси с эллаговой кислотой (aPTT-XL, Pacific Hemostasis; Fisher Diagnostics каталожный № 10-0402) в кювете, которую затем инкубировали при 37°C в течение 3 мин. К смеси добавляли 50 мкл 0,025М хлорида кальция (Sta-CaCl₂ 0,025M, Stago Diagnostic, Inc., кат. номер 00367) для инициации свертывания, и измеряли время образования сгустка. Для анализа РТ 50 мкл плазмы в кювете инкубировали при 37°C в течение 4 мин; начало свертывания инициировали добавлением 100 мкл реагента с тромбопластином (Triniclot PT Excel, TCoag, Inc., кат. номер T1106).

Стандартный иммунологический анализ hIgG4 на основе электрохемилюминисценции применяли для количественной оценки α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC каппа в плазме макак резус. Анализ проводили с биотинилированным козьим антителом к huIgG(H+L) от Bethyl (кат. номер A80-319B) в качестве реагента захвата, и мышинным антителом к человеческому IgG (Fc-специфичным) с меткой sulfo-TAG от Southern Biotech (кат. Номер 9190-01) в качестве реагента для детекции. Этот анализ был качественным, и нижний предел количественного анализа определяли как 41 нг/мл с минимально необходимым разведением 100.

Фиг. 16A-16F обобщают воздействия введения носителя и 10 мг/кг в/в α FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC Каппа у шести яванских макак на шаблонное время кровотечения на слизистой щеки (фиг. 16A, 16D), подушечке пальца (фиг. 16B, 16E) и конце хвоста (фиг. 16C, 16F). Воздействия на время кровотечения оценивали, сравнивая абсолютное время кровотечения (левые панели) и процент изменения во времени кровотечения (правые панели), с носителем-носителем в виде Лечений #1 и 2 в исследовательской сессии #1, и носитель- α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа в виде Лечений #1 и 2 в исследовательской сессии #2. Сравнения абсолютного времени кровотечения для носителя по сравнению с α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа, а также процента изменения во времени кровотечения для носителя-носителя по сравнению с носителем- α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа не выявило статистически значимых изменений времени кровотечения в любом из исследуемых участков с введением α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа в этой тестовой дозе.

Концентрация в плазме для α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа, достигнутая при тестовой в/в дозе 10 мг/кг в исследовании времени кровотечения у яванских макак, составила $290,7\pm 17,2$ (среднее $\pm$ SEM) мкг/мл ($\sim 1938,2$ нМ). Величины плазменного АЧТВ составили $31,0\pm 0,5$ с в начале исследования по сравнению с $71,3\pm 1,6$ с после в/в 10 мг/кг α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа (2,3-кратное увеличение). Величины плазменного РТ составили $12,7\pm 0,1$ с в начале исследования по сравнению с $12,6\pm 0,1$ с после в/в 10 мг/кг α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC Каппа (нет заметного увеличения).

Пример 10. Оценка фармакокинетики (ФК) и фармакодинамики (ФД) α FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC каппа после множественных внутривенных введений у макак резус

Свойства ФК-ФД для α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC каппа были охарактеризованы *in vivo* у макаки резус. Задача состояла в оценке ФК свойств и установлении ФК/ФД после двух недельных доз.

Дизайн исследования. Макакам резус (по четыре животных на каждую группу дозы) вводили (в/в) носитель без соединения (10 мМ ацетат натрия, pH 5,5, 7% Сахароза, 0,02% PS-80) или α FXI-18623p IgG4 HC (S228P) (E1)/LC каппа с пятью уровнями дозы 0,1, 0,3, 1, 3 и 6 мг/кг. Длительность исследования составила 22 суток, и 1,5 мл крови собирали для определения уровней лекарственного средства и активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ).

Биомаркер свертывания (АЧТВ) и уровни циркуляции в плазме α FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC измеряли в образцах крови, собранных на всем протяжении эксперимента, как показано в табл. 10.

Таблица 10. Расписание сбора образцов

Тип сбора	Время
ФК	Сутки -3; Сутки 0: до дозы (- 1 час) и 30 минут, 3 часа, 6 часов, 24 часа (Сутки 1), 48 часов (Сутки 2), 96 часов (Сутки 4)
	Сутки 7: до дозы и 1 час, 6 часов, 24 часа (Сутки 8), 48 часов (Сутки 9), 96 часов (Сутки 11), 168 часов (Сутки 14), 264 часа (Сутки 18) и 528 часов (Сутки 22) после второй дозы
ФД (оценка АЧТВ)	Сутки -3; Сутки 0: до дозы (- 1 час) и 30 минут, 3 часа, 6 часов, 24 часа (Сутки 1), 48 часов (Сутки 2), 96 часов (Сутки 4)
	Сутки 7: до дозы и 1 час, 6 часов, 24 часа (Сутки 8), 48 часов (Сутки 9), 96 часов (Сутки 11), 168 часов (Сутки 14), 264 часа (Сутки 18) и 528 часов (Сутки 22) после второй дозы

АЧТВ измеряли в размороженной (ранее замороженной до -80°C) плазме с цитратом, собранной у животных, с использованием анализатора свертывания Sta-R Evolution (Stago Diagnostic, Inc).

Анализатор свертывания измеряет время образования сгустка при помощи электромагнитной механической системы детекции сгустка. Для анализа АЧТВ анализатор смешивает 50 мкл плазмы с 50 мкл эллаговой кислоты (АЧТВ-XL, Pacific Hemostasis; Fisher Diagnostics каталожный № 10-0402) в кювете, которую затем инкубируют при 37°C в течение 3 мин. Затем к смеси добавляли 50 мкл 0,025M хлорида кальция (Sta- CaCl_2 0,025M, Stago Diagnostic, Inc., кат. номер 00367) для инициации свертывания и измеряли время формирования сгустка.

Стандартный иммунологический анализ hIgG4 на основе электрохемилюминисценции применяли для количественной оценки $\alpha\text{FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC}$ каппа в плазме макак резус. Анализ проводили с биотинилированным козьим антителом к huIgG(H+L) от Bethyl (кат. номер A80-319B) в качестве реагента захвата, и мышинным антителом к huIgG (Fc-специфичным) с меткой sulfoTAG от Southern Biotech (кат. номер 9190-01) в качестве реагента для детекции. Этот анализ был качественным, и нижний предел количественного анализа определяли как 41 нг/мл с минимально необходимым разведением 100.

Данные концентрация в плазме-время для отдельных животных для $\alpha\text{FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC}$ каппа анализировали с использованием некомпартментных (NCA) способов (Gabrielsson и Weiner, 2000). Все ФК параметры определяли или рассчитывали при помощи Phoenix 32 WinNonlin 6.3 (версия 6.3.0.395, Certara L.P. St. Louis, MO, 2012) Некомпартментный анализ использовал Model 201 (IV). Все данные концентрации и ФК параметры округляли до трех значащих цифр. Образцы со значениями концентрации ниже нижнего лимита определения ($< \text{LLOQ}$) были исключены из анализа ФК и расчета средних данных. Для построения графиков, значения $< \text{LLOQ}$ устанавливали как 1/2 от минимальной зарегистрированной концентрации для графиков концентрация-время для отдельного животного.

Модель сигмоидального ответа E_{max} (ФК/ФД) применяли для характеристики связи между воздействием и АЧТВ с использованием GraphPad Prism версии 7.00 (GraphPad Software Inc). В модели величина E_{max} соответствует максимальному увеличению АЧТВ, достигнутому от исходного уровня, и значение EC_{50} соответствует полумаксимальной эффективной концентрации. Вариабельность описана как 95% доверительный интервал (ДИ) для величины EC_{50} , предоставленной программным обеспечением.

Результаты

Индивидуальные профили концентрация-время для $\alpha\text{FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC}$ каппа показаны на фиг. 17А. Нелинейность наблюдали для всех ФК параметров. Средние значения клиренса снизились приблизительно от 8 мл/кг-сутки для наиболее низкой исследованной дозы (0,1 мг/кг) до приблизительно 4 мл/кг-сутки для наиболее высокой исследованной дозы (6 мг/кг). АЧТВ профили концентрация-время показаны на фиг. 17В. Наблюдали дозозависимое повышение АЧТВ. Связь между концентрациями $\alpha\text{FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC}$ каппа в плазме и АЧТВ наилучшим образом описывалась сигмоидной моделью E_{max} , адекватно описавшей эту связь. Рассчитанное значение EC_{50} для $\alpha\text{FXI-18623p IgG4 HC (S228P)(E1)/LC}$ каппа составило приблизительно 3,6 мкг/мл.

Таблица последовательностей

SEQ ID NO:	Описание	Последовательность
1	CDR1 тяжелой цепи α FXI-18611p и α FXI-18611	YSSSGYFWG
2	CDR2 тяжелой цепи α FXI-18611p и α FXI-18611	SILHSGVTYYNPSLKS
3	CDR3 тяжелой цепи α FXI-18611p	ARDRTTVSMTEYFQH
4	CDR3 тяжелой цепи α FXI-18611	ARDRTTVSLIEYFQH
5	CDR1 легкой цепи α FXI-18611p и α FXI-18611	QASQDISNYLN
6	CDR2 легкой цепи α FXI-18611p и α FXI-18611	DASNLET
7	CDR3 легкой цепи α FXI-18611p и α FXI-18611	QQFHLLPIT
8	CDR1 тяжелой цепи α FXI-18623p	GSISGAYYWS
9	CDR2 тяжелой цепи α FXI-	SIHYSGLTYYNPSLKS

	18623p	
10	CDR3 тяжелой цепи α FXI-18623p	ARDVDDSSGDEHYGMDV
11	CDR1 легкой цепи α FXI-18623p	RASQGIDSWLA
12	CDR2 легкой цепи α FXI-18623p	AASSLQS
13	CDR3 легкой цепи α FXI-18623p	QQYHIVPIT
14	Лидерная последовательность А легкой цепи	MSVPTQVLGLLLWLT DARC
15	Лидерная последовательность В тяжелой цепи	MEWSWVFLFFLSVTTGVHS
16	Константный домен тяжелой цепи IgG4 человека: (S228P) S в положении 108 замещена Р	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTV SSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQFENNYKTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLS LGK
17	Константный домен тяжелой цепи IgG4	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTV SSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP

	человека: (S228P) S в положении 108 замещена P; С-концевая K отсутствует	CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLS LG
18	Константный домен тяжелой цепи IgG1 человека	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK
19	Константный домен тяжелой цепи IgG1 человека С-концевая K отсутствует	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPG
20	Константный домен LC каппа человека	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTL TLISKADYEKIKVYACEVTHIQGLSSPVTKSFNRGEC
21	Вариабельная область HC α FXI-18611p; (Q1) (M105)	<u>QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG</u> WIRQPPGKLEWIGSILHSGVTYYNPSSLKSRVTISV DTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYC <u>ARDRTTVSMIEY</u> <u>FOHWGQGT</u> LVTVSS

22	Вариабельная область HC α FXI-18611p; (E1) (M105)	<u>EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG</u> WIRQPPGKLEWIGS <u>SILHSGVTYYNPSLKS</u> RVTTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <u>CARDRTTVSMIEY</u> <u>FQHWGQGT</u> LVTVSS
23	Вариабельная область HC α FXI-18611; (Q1) (L105)	<u>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG</u> WIRQPPGKLEWIGS <u>SILHSGVTYYNPSLKS</u> RVTTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <u>CAR</u> <u>DRTTVSLIEYFQHWGQGT</u> LVTVSS
24	Вариабельная область HC α FXI-18611; (E1) (L105)	<u>EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG</u> WIRQPPGKLEWIGS <u>SILHSGVTYYNPSLKS</u> RVTTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <u>CAR</u> <u>DRTTVSLIEYFQHWGQGT</u> LVTVSS
25	Вариабельная область LC α FXI-18611p и α FXI-18611	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>QASQDISNYLNWY</u> QQKPGKAPKLLIYD <u>ASNLE</u> TGVPSRFGSGSGTDFT FTISSLQPEDATYYC <u>QGFHLLPIT</u> FGGGTKVEIK
26	LC каппа α FXI-18611p и α FXI-18611	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>QASQDISNYLNWY</u> QQKPGKAPKLLIYD <u>ASNLE</u> TGVPSRFGSGSGTDFT FTISSLQPEDATYYC <u>QGFHLLPIT</u> FGGGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
27	ДНК, кодирующая LC каппа α FXI-18611p и α FXI-18611	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGC GCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCAA GCCTCCCAGGACATCTCCAACCTGAACCTGGTAC CAGCAGAAGCCCGCAAGGCTCCCAAGCTGCTGATC TACGACGCCTCCAACCTGGAGACCGGCGTGCCTAGC AGATTTAGCGGCAGCGGCTCCGGCACAGACTTCACC TTCACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACATTGCC ACCTACTACTGCCAGCAGTTTCACCTGCTGCCTATC ACCTTCGGCGGCGGCACCAAGGTGGAGATCAAAAGG ACCGTCGCCGCCCTAGCGTGTTCATCTTCCCCCCT AGCGACGAGCAGCTCAAGTCCGGCACCGCCAGCGTG GTGTGTCTGCTCAACAACCTCTACCCAGGGAGGCC

		AAGGTGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACAGAACAGGACAGC AAGGATTCCACATACAGCCTGAGCTCCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTAC GCCTGTGAGGTGACACACCAGGGCCTCAGCTCCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGAGGCGAATGCTGA
28	Варибельная область HC α FXI-18623p; (Q1)	<u>QVQLQESGPGLVKPSQTL</u> SLTCTVSGGSIYSGAYYW <u>SWIRQHPGKLEWIGSIHYSG</u> LTYYNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDVDSSSGDE <u>HYGMDVWGQGT</u> TVTVSS
29	Варибельная область HC α FXI-18623p; (E1)	<u>EVQLQESGPGLVKPSQTL</u> SLTCTVSGGSIYSGAYYW <u>SWIRQHPGKLEWIGSIHYSG</u> LTYYNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDVDSSSGDE <u>HYGMDVWGQGT</u> TVTVSS
30	Варибельная область LC α FXI-18623p	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQIGDSWLAWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQYHIVPITFGGGTKVEIK
31	LC каппа α FXI- 18623p	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQIGDSWLAWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQYHIVPITFGGGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
32	ДНК, кодирующая LC каппа α FXI- 18623p	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCAGCGTGAGC GCCAGCGTGGGCGATAGGGTGACCATCACCTGCAGA GCCTCCCAGGGCATCGACAGCTGGCTGGCCTGGTAC CAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCTAGCAGCCTGCAGAGCGCGTGCCTAGC AGGTTCAGCGGAAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACA CTGACCATCAGCAGCCTGCAACCTGAGGACTTCGCC ACCTACTACTGCCAGCAGTATCACATCGTGCCCATC ACCTTCGGCGGCGGAACCAAGGTGGAGATTAAGAGG ACCGTGGCGGCCCCAGCGTGTTTATCTTTCCCCC AGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGAACCGCCAGCGTG GTGTGCCTGCTGAACAACCTTACCCAGAGAGGCC

		AAGGTGCAGTGGAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCC GGAAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGATTCC AAGGATAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACA CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTAC GCCTGTGAGGTGACCCATCAGGGCCTGAGCAGCCCT GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGCTGA
33	HC IgG4 α FXI- 18611p (S228P) (Q1) (M105)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSSISGYFWG WIRQPPGKLEWIGSILHSGVTYYNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRTTVSMIEY FQHWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQFENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLGLK
34	ДНК, кодирующая HC IgG4 α FXI- 18611p (S228P) (Q1) (M105); xxx= CAG или CAA (Q)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGCCTGGTG AAGCCTAGCGAGACTGTCCCTGACCTGCGCCGTG AGCGGCTACAGCATCTCCAGCGGCTATTCTGGGGA TGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGCGCTGGAATGG ATCGGTTCTATCCTGCACTCCGGCGTGACATACTAT AACCCTAGCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCTCCGTG GATACCAGCAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGCTCAGC AGCGTGACCGCCGCCGATACCGCTGTGTACTACTGC GCCAGAGACAGGACCACCGTCTCCATGATCGAGTAC TTCCAGCACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTCACCGTG TCCTCGCCTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTTTCCT CTGGCCCCCTGCTCCAGATCCACAAGCGAGAGCACC GCTGCCCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACAGTGTCTGGAACAGCGGCGCCCTG ACAAGCGGCGTCCATACATTCCCCGCGGTGCTGCAG TCCAGCGGACTGTATAGCCTGAGCTCCGTGGTGACC

		GTGCCTTCCAGCAGCCTGGGAACCAAGACATATACC TGCAACGTGGACCATAAGCCCAGCAACACAAAAGTC GACAAGAGGGTGGAGAGCAAGTACGGACCCCTTGT CCCCCTTGTCTGCTCCCGAGTTCTCGGCGGACCT AGCGTGTTCTGTTTCTCCCAAGCCCAAGGATACC CTGATGATCAGCAGGACCCCTGAGGTACCTGCGTG GTGGTCGACGTGTCCAGGAGGACCCTGAGGTCCAG TTTAACTGGTACGTGGACGGAGTGGAGGTGCACAAC GCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTTCAATTCC ACCTACAGGGTGGTGAGCGTCTGACCGTGCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGAAAGGAGTACAAATGCAAG GTCTCCAACAAGGGCCTCCCTAGCAGCATCGAGAAG ACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAGCCC CAGGTGTACACCTGCCTCCTAGCCAGGAGGAAATG ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACATGCCTGGTGAAG GGCTTCTATCTAGCGACATCGCCGTGGAGTGGAG AGCAATGGCCAGCCCGAGAATAACTACAAGACCACC CCCCCTGTGCTCGATAGCGACGGCAGCTTCTTTCTG TACAGCAGGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAA GAGGGCAACGTGTTTAGCTGCTCCGTCATGCACGAG GCCCTGCATAACCACTACACCCAAAAATCCCTGTCC CTGTCCCTGGGCAAGTGA
35	HC IgG4 αFXI- 18611p (S228P) (E1) (M105)	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG WIRQPPGKLEWIGSILHSGVTYYNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC<u>ARDRTVSMIEY</u> <u>FQHWGQ</u>TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLGLK

36	ДНК, кодирующая HC IgG4 α FXI- 18611p (S228P); (E1) (M105) xxx=GAA или GAG (E)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGCCTGGTG AAGCCTAGCGAGACACTGTCCCTGACCTGCGCCGTG AGCGGCTACAGCATCTCCAGCGGCTATTTCTGGGGA TGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGG ATCGGTTCTATCCTGCACTCCGGCGTGACATACTAT AACCCTAGCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCTCCGTG GATACCAGCAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGCTCAGC AGCGTGACCGCCGCCGATACCGCTGTGTACTACTGC GCCAGAGACAGGACCACCGTCTCCATGATCGAGTAC TTCCAGCACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTCACCGTG TCCTCCGCCTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTTTCCT CTGGCCCCCTGCTCCAGATCCACAAGCGAGAGCACC GCTGCCCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACAGTGTCTGGAACAGCGGCGCCCTG ACAAGCGGCGTCCATACATTCCCCGCCGTGCTGCAG TCCAGCGGACTGTATAGCCTGAGCTCCGTGGTGACC GTGCCTTCCAGCAGCCTGGGAACCAAGACATATACC TGCAACGTGGACCATAAGCCCAGCAACACAAAAGTC GACAAGAGGGTGGAGAGCAAGTACGGACCCCCCTGT CCCCCTTGCTCTGCTCCCGAGTTCTCGGCGGACCT AGCGTGTTCTGTTCCTCCCAAGCCCAAGGATACC CTGATGATCAGCAGGACCCCTGAGGTCACCTGCGTG GTGGTCGACGTGTCCAGGAGGACCCTGAGGTCCAG TTTAACTGGTACGTGGACGGAGTGGAGGTGCACAAC GCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTTC AATTCC ACCTACAGGGTGGTGAGCGTCCTGACCGTGCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGAAAGGAGTACAAATGCAAG GTCTCCAACAAGGGCCTCCCTAGCAGCATCGAGAAG ACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAGCCC CAGGTGTACACCCTGCCTCCTAGCCAGGAGGAAATG ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACATGCCTGGTGAAG GGCTTCTATCCTAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGCCAGCCCGAGAATAACTACAAGACCACC CCCCCTGTGCTCGATAGCGACGGCAGCTTCTTTCTG TACAGCAGGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAA
----	--	--

		GAGGGCAACGTGTTTAGCTGCTCCGTCATGCACGAG GCCCTGCATAACCACTACACCCAAAAATCCCTGTCC CTGTCCCTGGGCAAGTGA
37	HC IgG4 α FXI- 18611 (S228P) (Q1) (L105)	<u>QVQLQESGPGLVKPS</u> ETLSLTCAVSGY <u>SIS</u> SGYFWG WIRQPPGKLEWIGSILHSGVTYYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <u>ARDRTTVSLIEY</u> <u>FQHWG</u> QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH ALHNHYTQKSLSLGLGK
38	ДНК, кодирующая HC IgG4 α FXI- 18611 (S228P); (Q1) (L105) xxx= CAG или CAA (Q)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGACTCGTG AAGCCCTCCGAAACCCTGAGCCTCACATGCGCCGTC TCCGGATACAGCATCAGCAGCGGATACTTCTGGGGC TGGATCAGACAGCCCCCGCAAAGGCTGGAGTGG ATCGGTTCTATTCTCCACAGCGCGTGACATACTAC AACCCTCCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGCGTG GACACCTCCAAGAACCAGTTTTCCTCAAGCTGAGC AGCGTGACCGCCGCTGACACAGCCGTGATTACTGC GCCAGGGACAGGACCACCGTGTCCTGATTGAGTAC TTCCAGCATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTC AGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTCTTCCCT CTGGCCCCCTTGAGCAGAAGCACCTCCGAGTCCACA GCCGCCCTGGGATGCCTCGTGAAGGATTACTTCCCC GAGCCCGTCACAGTCTCCTGGAAGTCCGGCGCTCTG ACCAGCGGAGTGACACCTTCCCGCCGTGCTGCAA AGCAGCGGCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACC GTGCCTTCTCCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACA TGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACCAAGGTG GACAAGAGAGTGGAAGCAAGTACGGCCCCCCTGTC

		CCCCCTTGTCCTGCCCCGAGTTTCTGGGAGGACCC TCCGTGTTCTCTTTCTCCCAAGCCTAAGGACACC CTGATGATCTCCAGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTG GTCGTGGACGTGTCCAGGAGGACCCTGAGGTGCAG TTTAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAAC GCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTTCAATAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCAC CAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAA GTCAGCAACAAGGGCCTGCCCTCCTCCATCGAGAAG ACCATTAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAGCCT CAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCAGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAG GGATTTTACCCAGCGACATCGCTGTGGAATGGGAG AGCAATGGCCAGCCGAGAACAACACAAGACCACC CCTCCCGTGCTCGATTCCGACGGCAGCTTTTCTCTG TACAGCAGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGGTGGCAG GAAGGCAACGTGTTCTCTGTTCCGTGATGCATGAG GCCCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTGTCC CTGTCCCTGGGCAAGTGA
39	HC IgG4 α FXI- 18611 (S228P) (E1) (L105)	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG WIRQPPGKLEWIGSILHSGVTYYNP SLK SRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ARDRTTVSLIEY FQHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLG TK TYTCNV DH KPSNTKV DKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTI SK AKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV M HE ALHNHYTQKSLSL SL GK
40	ДНК, кодирующая HC IgG4 α FXI- 18611 (S228P)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGACTCGTG AAGCCCTCCGAAACCTGAGCCTCACATGCGCCGTC TCCGGATACAGCATCAGCAGCGGATACTTCTGGGGC

(Q1)	(L105)	TGGATCAGACAGCCCCCGGCAAAGGCCTGGAGTGG
xxx=GAA или GAG		ATCGGTTCTATTCTCCACAGCGGCGTGACATACTAC
(E)		AACCCCTCCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGCGTG
		GACACCTCCAAGAACCAGTTTTCCCTCAAGCTGAGC
		AGCGTGACCGCCGCTGACACAGCCGTGTATTACTGC
		GCCAGGGACAGGACCACCGTGTCCCTGATTGAGTAC
		TTCCAGCATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTC
		AGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTCTTCCCT
		CTGGCCCCTTGCAGCAGAAGCACCTCCGAGTCCACA
		GCCGCCCTGGGATGCCTCGTGAAGGATTACTTCCCC
		GAGCCCGTCACAGTCTCCTGGAACCTCCGGCGCTCTG
		ACCAGCGGAGTGACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAA
		AGCAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTCACC
		GTGCCTTCTCCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACA
		TGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTG
		GACAAGAGAGTGGAAAGCAAGTACGGCCCCCCTGC
		CCCCCTTGTCCTGCCCCGAGTTTCTGGGAGGACCC
		TCCGTGTTCTCTTTCTCCCAAGCCTAAGGACACC
		CTGATGATCTCCAGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTG
		GTCTGTGGACGTGTCCAGGAGGACCTGAGGTGCAG
		TTTAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAAC
		GCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTTCAATAGC
		ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCAC
		CAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAA
		GTCAGCAACAAGGCCTGCCCTCTCCATCGAGAAG
		ACCATTAGCAAGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAGCCT
		CAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCAGGAGGAGATG
		ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAG
		GGATTTTACCCCAGCGACATCGCTGTGGAATGGGAG
		AGCAATGGCCAGCCGAGAACAATAACAAGACCACC
		CCTCCCGTGCTCGATTCCGACGGCAGCTTTTTCCTG
		TACAGCAGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGGTGGCAG
		GAAGGCAACGTGTTCTCCTGTTCCGTGATGCATGAG
		GCCCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTGTCC
		CTGTCCCTGGGCAAGTGA

41	HC-IgG4 α FXI- 18623p (S228P (Q1))	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSIYSGAYYW SWIRQHPGKLEWIGSIHYSGLTYYNPSLKSRTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDVDDSSGDE HYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSN TKVDKRVESKYGPCCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTEPVTCTVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLGK
42	ДНК, кодирующая pHC-IgG4 α FXI- 18623 (S228P (Q1)) xxx= CAG или CAA (Q)	xxxGTCCAGCTGCAGGAATCCGGACCCGGCCTGGTG AAGCCTAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGTACCGTG TCCGGCGGAAGCATCTATTCCGGCGCCTACTACTGG TCCTGGATTAGGCAGCACCCCGGCAAGGCCTGGAA TGGATCGGCTCCATCCACTACAGCGGCCTGACCTAT TACAACCCCTCCCTGAAGTCCAGGGTGACCATCAGC GTCGACACAAGCAAGAACCAGTTCTCCCTCAAGCTG AGCAGCGTGACCGCCCGGACACCGCCGTGTATTAT TGCGCCAGAGACGTGGACGACTCCTCCGGAGACGAG CACTACGGCATGGACGTCTGGGGCCAGGGCACAACA GTGACAGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGACCCTCC GTCTTCCCTCTGGCCCCCTTGCTCCAGGAGCACAAGC GAAAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGAC TACTTTCGGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAATAGC GGAGCCCTCACCTCCGGAGTCCACACATTTCCCGCC GTCTGCAGAGCAGCGCCTGTACTCCCTGAGCTCC GTGGTGACCGTGCCCTTCCTCCAGCCTGGGCACCAAG ACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCTAGCAAT ACCAAGGTGGACAAGAGGTGGAATCCAAGTACGGC CCCCCTTGCCCTCCTTGCTCTGCCCCGAATTTCTG GGCGGCCCTTCCGTGTTCTGTTCCTCCCAAGCCC AAGGATACCCTGATGATCAGCAGGACCCCTGAGGTG

		ACCTGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAGGACCCC GAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAA GTGCACAATGCCAAGACAAAGCCCAGGGAGGAGCAG TTCAATAGCACCTACAGGGTGGTCAGCGTGCTCACA GTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGAAGGAGTAC AAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCTCC ATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAAGGCCAGCCC AGGGAGCCCCAAGTGTATACCCCTCCCCCTAGCCAG GAGGAAATGACCAAAACCAGGTCTCCCTGACCTGT CTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCTGTG GAGTGGGAGAGCAACGGCCAACCCGAGAACAATAT AAGACCACACCCCCGCTCTGGACTCCGATGGCTCC TTCTTCCTGTACAGCAGGCTGACCGTCGACAAGTCC AGGTGGCAGGAAGGAAACGTGTTCTCCTGTAGCGTC ATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTATACCCAGAAG TCCCTGTCCCTGAGCCTGGGCAAGTGA
43	HC-IgG4 α FXI- 18623p (S228P (E1)	EVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSIYSGAYYW SWIRQHPGKLEWIGSIHYSGLTYNPSLKSRTVIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDVDDSSGDE HYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLK
44	ДНК, кодирующая HC IgG4 α FXI- 18623p (S228P (E1) xxx=GAA или GAG (E)	xxxGTCCAGCTGCAGGAATCCGGACCCGGCCTGGTG AAGCCTAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGTACCGTG TCCGGCGGAAGCATCTATTCGGCGCCTACTACTGG TCCTGGATTAGGCAGCACCCCGCAAGGGCCTGGAA TGGATCGGCTCCATCCACTACAGCGGCCTGACCTAT TACAACCCCTCCCTGAAGTCCAGGGTGACCATCAGC

		GTCGACACAAGCAAGAACCAGTTCTCCCTCAAGCTG AGCAGCGTGACCGCCGCCGACACCGCCGTGATTAT TGGCCAGAGACGTGGACGACTCCTCCGGAGACGAG CACTACGGCATGGACGTCTGGGGCCAGGGCACAACA GTGACAGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGACCCCTCC GTCTTCCCTCTGGCCCTTGCTCCAGGAGCACAAGC GAAAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGAC TACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAATAGC GGAGCCCTCACCTCCGGAGTCCACACATTTCCCGCC GTCCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCCCTGAGCTCC GTGGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGGCACCAAG ACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCTAGCAAT ACCAAGGTGGACAAGAGGGTGAATCCAAGTACGGC CCCCTTGCCCTCCTTGCTCCTGCCCCGAATTTCTG GGCGGCCCTTCCGTGTTCTGTTCCCTCCCAAGCCC AAGGATACCCTGATGATCAGCAGGACCCCTGAGGTG ACCTGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAGGACCCC GAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAA GTGCACAATGCCAAGACAAAGCCCAGGGAGGAGCAG TTCAATAGCACCTACAGGGTGGTCAGCGTGCTCACA GTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGAAGGAGTAC AAGTGCAAAGTGCCAACAAGGGCCTGCCCTCCTCC ATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAAGGCCAGCCC AGGGAGCCCCAAGTGTATACCCCTCCCCCTAGCCAG GAGGAAATGACCAAAAACCAGGTCTCCCTGACCTGT CTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCTGTG GAGTGGGAGAGCAACGGCCAACCCGAGAACAACCTAT AAGACCACACCCCCCGTCTGGACTCCGATGGCTCC TTCTTCTGTACAGCAGGCTGACCGTCGACAAGTCC AGGTGGCAGGAAGGAAACGTGTTCTCCTGTAGCGTC ATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTATACCCAGAAG TCCCTGTCCCTGAGCCTGGGCAAGTGA
45	HC IgG1 α FXI- 18611p (Q1) (M105)	<u>QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG</u> WIRQPPGKLEWIGSILHSGVTYYNPSLKS RVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRTTVSMIEY

		FOHWGQGTILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHCTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
46	ДНК, кодирующая HC IgG1 αFXI- 18611p (Q1) (M105) xxx= CAG или CAA (Q)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGCCTGGTG AAGCCTAGCGAGACACTGTCCCTGACCTGCGCCGTG AGCGGCTACAGCATCTCCAGCGCTATTTCTGGGGA TGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCTGGAATGG ATCGGTTCTATCCTGCACTCCGGCGTGACATACTAT AACCCCTAGCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCTCCGTG GATACCAGCAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGCTCAGC AGCGTGACCGCGCCGATACCGCTGTGTACTACTGC GCCAGAGACAGGACCACCGTCTCCATGATCGAGTAC TTCCAGCACTGGGGCCAAGGCACCCCTGGTCACCGTG TCCTCCGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTTCCA CTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGGCGGAACA GCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCT GAGCCAGTCACAGTGCTCCTGGAACTCCGGAGCCCTG ACATCCGGCGTGACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAA TCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCGTGACA GTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATT TGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTG GACAAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACC CATACATGCCACCTTGTCCTCGCTCCTGAGCTGCTG GGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCAAAACCA AAAGACACACTCATGATCAGCCGACCCCCGAAGTC ACCTGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGATCCA GAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAA GTCCACAACGCAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAG

		TACAATAGCACATACAGGGTGGTCCGTCCTGACA GTGCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTAT AAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCA ATTGAGAAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCA CGGGAACCCCAGGTGTATACCCTGCCCCCAAGCCGG GATGAACTGACCAAAAACCAGGTGAGCCTGACATGC CTGGTGAAAGGGTTTACCCAAGCGATATTGCCGTC GAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAAACAATTAC AAAACCACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGC TTTTTCCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCC AGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCTGCTCCGTG ATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAG TCCCTCTCCCTCAGCCCAGGAAAGTGA
47	HC IgG1 αFXI- 18611p (E1) (M105)	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG WIRQPPGKLEWIGSILHSGVTYYPNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRTTVSMLEY FOHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
48	ДНК, кодирующая HC IgG1 αFXI- 18611p (Q1) (M105) xxx=GAA или GAG (E)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGCCTGGTG AAGCCTAGCGAGACACTGTCCCTGACCTGCGCCGTG AGCGGCTACAGCATCTCCAGCGGTATTTCTGGGGA TGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGG ATCGGTTCTATCCTGCACTCCGGCGTGACATACTAT AACCCTAGCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCTCCGTG GATACCAGCAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGCTCAGC AGCGTGACCGCCGCCGATACCGCTGTGTACTACTGC GCCAGAGACAGGACCACCGTCTCCATGATCGAGTAC

		TTCCAGCACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTCACCGTG TCCTCCGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCTCA CTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGGCGGAACA GCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCT GAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACTCCGGAGCCCTG ACATCCGGCGTGACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAA TCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCGTGACA GTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATT TGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTG GACAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACC CATACTGCCCACCTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTG GGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCAAAACCA AAAGACACACTCATGATCAGCCGACCCCGAAGTC ACCTGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGATCCA GAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAA GTCCACAACGCAAAAACCAAACCTAGAGAAGAACAG TACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCTGACA GTGCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTAT AAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCA ATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGAGCCA CGGGAACCCAGGTGTATACCCTGCCCCAAGCCGG GATGAAGTACCAAAAACAGGTGAGCCTGACATGC CTGGTGAAAGGGTTTACCCAAGCGATATTGCCGTC GAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTAC AAAACCACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGC TTTTCTCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCC AGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTCTCTGCTCCGTG ATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAG TCCCTCTCCCTCAGCCAGGAAAGTGA
49	HC IgG1 α FXI- 18611 (Q1) (L105)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGY<u>SISSGYFWG</u> WIRQPPGKGLEWIG<u>SILHSGVTYYNPSL</u>KSRVTISV DTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARD<u>RTTVSLIEY</u> <u>FQHWGQ</u>TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV

		DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
50	ДНК, кодирующая HC IgG1 α FXI- 18611 (Q1) (L105) xxx= CAG или САА (Q)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGACTCGTG AAGCCCTCCGAAACCCTGAGCCTCACATGCGCCGTC TCCGGATACAGCATCAGCAGCGGATACTTCTGGGGC TGGATCAGACAGCCCCCGGCAAAGCCTGGAGTGG ATCGGTTCTATTCTCCACAGCGGCGTGACATACTAC AACCCCTCCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGCGTG GACACCTCCAAGAACCAGTTTTCCCTCAAGCTGAGC AGCGTGACCGCGCTGACACAGCCGTGTATTACTGC GCCAGGGACAGGACCACCGTGTCCCTGATTGAGTAC TTCCAGCATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTC AGCAGCGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTTCCA CTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGGCGGAACA GCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCT GAGCCAGTCACAGTGTCTTGGAACTCCGGAGCCCTG ACATCCGGCGTGACACCTTCCCGCTGTGCTGCAA TCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCGTGACA GTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATT TGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTG GACAAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACC CATACATGCCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTG GGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCAAAACCA AAAGACACACTCATGATCAGCCGACCCCCGAAGTC ACCTGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGATCCA GAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAA GTCCACAACGCAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAG TACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCCTGACA GTGCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTAT AAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCA

		ATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCA CGGGAACCCCAGGTGTATACCTGCCCCAAGCCGG GATGAAGTACCAAAAACCAGGTCAGCCTGACATGC CTGGTGAAAGGGTTTTACCAAGCGATATTGCCGTC GAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTAC AAAACCACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGC TTTTTCCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCC AGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCTGCTCCGTG ATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAG TCCCTCTCCCTCAGCCAGGAAAGTGA
51	HC IgG1 α FXI- 18611 (E1) (L105)	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG WIRQPPGKLEWIGSILHSGVTYYNPSLKSRTVISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRTTVSLIEY FQHWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
52	ДНК, кодирующая HC IgG1 α FXI- 18611 (E1) (L105) xxx=GAA или GAG (E)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGACTCGTG AAGCCCTCCGAAACCCTGAGCCTCACATGCGCCGTC TCCGGATACAGCATCAGCAGCGGATACTTCTGGGGC TGGATCAGACAGCCCCCGCAAAGGCCTGGAGTGG ATCGGTTCATTCTCCACAGCGCGTGACATACTAC AACCCCTCCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGCGTG GACACCTCCAAGAACCAGTTTTCCCTCAAGCTGAGC AGCGTGACCGCCGCTGACACAGCCGTGTATTACTGC GCCAGGGACAGGACCACCGTGTCCCTGATTGAGTAC TTCCAGCATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTC AGCAGCGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCTCA CTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGCGGAACA

		GCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCT GAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGGAGCCCTG ACATCCGGCGTGCACACCTTCCCGCTGTGCTGCAA TCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCTGTGACA GTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATT TGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTG GACAAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACC CATACATGCCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTG GGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCAAAACCA AAAGACACACTCATGATCAGCCGGACCCCGAAGTC ACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCACGAAGATCCA GAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAA GTCCACAACGCAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAG TACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCTGTGACA GTGCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTAT AAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCA ATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCA CGGGAACCCAGGTGTATACCCTGCCCCAAGCCGG GATGAAGTACCAAAAACAGGTCAGCCTGACATGC CTGGTGAAAGGGTTTTACCCAAGCGATATTGCCGTC GAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTAC AAAACCACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGC TTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCC AGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCTGTCTCCGTG ATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAG TCCCTCTCCCTCAGCCCAGGAAAGTGA
53	HC IgG1 α FXI- 18623p (1Q)	<u>QVQLQESG</u>PLVKPSQTLSLTCTVSGGSIYSGAYYW SWIRQHPGKLEWIGSIHYSGLTYYNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDVDDSSGDE HYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTSVWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG

		KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
54	ДНК, кодирующая HC IgG1 αFXI- 18623p (1Q) xxx= CAG или CAA (Q)	xxxGTCCAGCTGCAGGAATCCGGACCCGGCCTGGTG AAGCCTAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGTACCGTG TCCGGCGGAAGCATCTATTCCGGCGCCTACTACTGG TCCTGGATTAGGCAGACCCCGGCAAGGGCCTGGAA TGGATCGGCTCCATCCACTACAGCGCCTGACCTAT TACAACCCCTCCCTGAAGTCCAGGGTGACCATCAGC GTGACACAAGCAAGAACCAGTTCTCCCTCAAGCTG AGCAGCGTGACCGCCGCCGACACCGCCGTGTATTAT TGCGCCAGAGACGTGGACGACTCCTCCGGAGACGAG CACTACGGCATGGACGTCTGGGGCCAGGGCACAACA GTGACAGTGAGCAGCGCTAGCACAAAAGGACCAAGC GTGTTTCCACTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGC GGCGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGAT TACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTTGAACTCC GGAGCCCTGACATCCGGCGTGACACCTTCCCCGCT GTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCC GTCTGTACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAG ACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAAC ACTAAGGTGGACAAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGT GATAGACCCATACATGCCCACCTTGTCCTCGCTCCT GAGCTGCTGGGGGACCTTCCGTCTTCTGTTCCT CCAAAACAAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACC CCCGAAGTCACCTGTGTGGTGGTGACGTCAGCCAC GAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGAT GGAGTGGAAGTCACAACGCAAAACCAACCTAGA GAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCC GTCTGTACAGTGCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGC AAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTG CCTGCACCAATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAG GGGCAGCCACGGGAACCCAGGTGTATACCTGCCC CCAAGCCGGGATGAACTGACCAAAAACAGGTCAGC

		CTGACATGCCTGGTGAAAGGGTTTTACCCAAGCGAT ATTGCCGTCGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAA AACAATTACAAAACCAACCCACCTGTGCTGGACTCC GATGGGAGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTG GACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCC TGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTAT ACACAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGAAAGTGA
55	HC IgG1 αFXI- 18623p (1E)	<u>EVQLQESGPGLVKPSQTL</u>SLTCTVSGGSIYSGAYYW <u>SWIRQHPGKLEWIGSIHY</u>SGLTYYNPSLKSrvTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDVDDSSGDE <u>HYGMDVWGQGT</u>TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
56	ДНК, кодирующая HC IgG1 αFXI- 18623p (1E) xxx=GAA или GAG (E)	xxxGTCCAGCTGCAGGAATCCGGACCCGGCCTGGTG AAGCCTAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGTACCGTG TCCGGCGGAAGCATCTATTCCGGCGCCTACTACTGG TCCTGGATTAGGCAGCACCCCGCAAGGGCCTGGAA TGGATCGGCTCCATCCACTACAGCGCCTGACCTAT TACAACCCCTCCCTGAAGTCCAGGGTGACCATCAGC GTCGACACAAGCAAGAACCAGTTCTCCCTCAAGCTG AGCAGCGTGACCGCCGCCGACACCGCCGTGTATTAT TGCGCCAGAGACGTGGACGACTCCTCCGGAGACGAG CACTACGGCATGGACGTCTGGGGCCAGGGCACAACA GTGACAGTGAGCAGCGCTAGCACAAAAGACCAAGC GTGTTTCCACTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGC GGCGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGAT TACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTTGGAACCTC GGAGCCCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCT

		GTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCC GTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAG ACTTACATTGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAAC ACTAAGGTGGACAAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGT GATAAGACCCATACATGCCCACCTTGTCCTCGCTCCT GAGCTGCTGGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCCT CCAAAACCAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACC CCCGAAGTCACCTGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGAT GGAGTGGAAGTCCACAACGCAAAAACCAAACCTAGA GAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGTGGTGTCC GTCCTGACAGTGCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGC AAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTG CCTGCACCAATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAG GGGCAGCCACGGGAACCCAGGTGTATACCTGCCC CCAAGCCGGGATGAACTGACCAAAAACAGGTCAGC CTGACATGCCTGGTGAAAGGGTTTTACCCAAGCGAT ATTGCCGTGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAA ACAATTACAAAACACCCACCTGTGCTGGACTCC GATGGGAGCTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTG GACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCC TGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTAT ACACAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGAAAGTGA
57	HC-IgG4 αFXI- 18611p (S228P) (Q1) (M105) (C- концевая К отсутствует)	<u>QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG</u> WIRQPPGKLEWIGS<u>ILHSGVTYYNPSLKS</u>RVTISV DTSKNQFSCLKSSVTAADTAVYYC<u>CARDRTTVSMIEY</u> <u>FOHWGQGT</u>LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHHE

		<i>ALHNHYTQKSLSLSLG</i>
58	ДНК, кодирующая HC-IgG4 α FXI- 18611p (S228P) (Q1) (M105); xxx= CAG или САА (Q) (С-концевая К отсутствует)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGCCTGGTG AAGCCTAGCGAGACACTGTCCCTGACCTGCGCCGTG AGCGGCTACAGCATCTCCAGCGGTATTTCTGGGGA TGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGG ATCGGTTCTATCCTGCACTCCGGCGTGACATACTAT AACCCTAGCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCTCCGTG GATACCAGCAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGCTCAGC AGCGTGACCGCCGCCGATACCGCTGTGTACTACTGC GCCAGAGACAGGACCACCGTCTCCATGATCGAGTAC TTCCAGCACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTCACCGTG TCCTCCGCCTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTTCCT CTGGCCCCCTGCTCCAGATCCACAAGCGAGAGCACC GCTGCCCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACAGTGTCTGGAACAGCGGCGCCCTG ACAAGCGGCGTCCATACATTCGCCCGCTGCTGCAG TCCAGCGGACTGTATAGCCTGAGCTCCGTGGTGACC GTGCCTTCCAGCAGCCTGGGAACCAAGACATATACC TGCAACGTGGACCATAAGCCCAGCAACACAAAAGTC GACAAGAGGGTGGAGAGCAAGTACGGACCCCTTGT CCCCCTTGTCCTGCTCCCGAGTTCTCGGCGGACCT AGCGTGTTCCTGTTTCTCCCAAGCCCAAGGATACC CTGATGATCAGCAGGACCCCTGAGGTACCTGCGTG GTGGTCGACGTGTCCAGGAGGACCCTGAGGTCCAG TTTAACTGGTACGTGGACGGAGTGAGGTGCACAAC GCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAGCAGTTCAATTCC ACCTACAGGGTGGTGAGCGTCCTGACCGTGTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGAAGGAGTACAAATGCAAG GTCTCCAACAAGGCCTCCCTAGCAGCATCGAGAAG ACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAGCCC CAGGTGTACACCCTGCCTCCTAGCCAGGAGGAAATG ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACATGCCTGGTGAAG GGCTTCTATCCTAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGCCAGCCCGAGAATAACTACAAGACCACC CCCCCTGTGCTCGATAGCGACGGCAGCTTCTTTCTG

		TACAGCAGGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAA GAGGGCAACGTGTTTAGCTGCTCCGTCATGCACGAG GCCCTGCATAACCACTACACCCAAAAATCCCTGTCC CTGTCCCTGGGC
59	HC-IgG4 α FXI- 18611p (S228P) (E1) (M105) (C- концевая К отсутствует)	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG WIRQPPGKLEWIGSILHSGVTYYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRTVSMIEY FOHWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLGLG
60	ДНК, кодирующая HC-IgG4 α FXI- 18611p S228P); (E1) (M105) xxx=GAA или GAG (E) (C-концевая К отсутствует)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGCCTGGTG AAGCCTAGCGAGACACTGTCCCTGACCTGCGCCGTG AGCGGCTACAGCATCTCCAGCGGTATTTCTGGGGA TGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCTGGAATGG ATCGGTTCTATCCTGCACTCCGGCGTGACATACTAT AACCCTAGCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCTCCGTG GATACCAGCAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGCTCAGC AGCGTGACCGCCGCCGATACCGCTGTGTACTACTGC GCCAGAGACAGGACCACCGTCTCCATGATCGAGTAC TTCCAGCACTGGGGCCAAGGCACCCCTGGTCACCGTG TCCTCCGCCTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTTTCCT CTGGCCCCCTGCTCCAGATCCACAAGCGAGAGCACC GCTGCCCTGGGCTGTCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAGCCCGTGACAGTGTCTGGAACAGCGCGCCCTG ACAAGCGGCGTCCATACATTCCCCGCCGTGCTGCAG TCCAGCGGACTGTATAGCCTGAGCTCCGTGGTGACC GTGCCTTCCAGCAGCCTGGGAACCAAGACATATACC TGCAACGTGGACCATAAGCCCAGCAACACAAAAGTC

		GACAAGAGGGTGGAGAGCAAGTACGGACCCCTTGT CCCCCTTGTCTGCTCCCGAGTTCCTCGGCGGACCT AGCGTGTTCCTGTTTCTCCCAAGCCCAAGGATACC CTGATGATCAGCAGGACCCCTGAGGTACCTGCGTG GTGGTCGACGTGTCCAGGAGGACCCCTGAGGTCCAG TTTAACTGGTACGTGGACGGAGTGGAGGTGCACAAC GCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAGCAGTTCAATTCC ACCTACAGGGTGGTGAGCGTCCTGACCGTGCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGAAAGAGTACAAATGCAAG GTCTCCAACAAGGGCCTCCCTAGCAGCATCGAGAAG ACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAGCCC CAGGTGTACACCCTGCCTCCTAGCCAGGAGGAAATG ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACATGCCTGGTGAAG GGCTTCTATCCTAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGCCAGCCGAGAATAACTACAAGACCACC CCCCCTGTGCTCGATAGCGACGGCAGCTTCTTTCTG TACAGCAGGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAA GAGGGCAACGTGTTTAGCTGCTCCGTCATGCACGAG GCCCTGCATAACCACTACACCCAAAAATCCCTGTCC CTGTCCCTGGGC
61	HC-IgG4 α FXI- 18611 S228P) (Q1) (L105) (C- концевая К отсутствует)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG WIRQPPGKGLEWIGSILHSGVTYYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRTTVSLIEY FOHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVTVPSSSLGTTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLGLG
62	ДНК, кодирующая HC-IgG4 α FXI-	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGACTCGTG AAGCCCTCCGAAACCTGAGCCTCACATGCGCCGTC

18611 (S228P) ; (Q1) (L105) xxx= CAG или CAA (Q) (C- концевая К отсутствует)	TCCGGATACAGCATCAGCAGCGGATACTTCTGGGGC TGGATCAGACAGCCCCCGGCAAAGGCCTGGAGTGG ATCGGTTCTATTCTCCACAGCGCGTGACATACTAC AACCCCTCCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGCGTG GACACCTCCAAGAACCAGTTTTCCCTCAAGCTGAGC AGCGTGACCGCCGCTGACACAGCCGTGTATTACTGC GCCAGGGACAGGACCACCGTGTCCCTGATTGAGTAC TTCCAGCATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTC AGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTCTTCCCT CTGGCCCCCTTGACAGAGAAGCACCTCCGAGTCCACA GCCGCCCTGGGATGCCTCGTGAAGGATTACTTCCCC GAGCCCGTCACAGTCTCCTGGAACCTCCGGCGCTCTG ACCAGCGGAGTGACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAA AGCAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTCACC GTGCCTTCTCTCCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACA TGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTG GACAAGAGAGTGGAAAGCAAGTACGGCCCCCCTGC CCCCCTTGCTCTGCCCCGAGTTTCTGGGAGGACCC TCCGTGTTCTCTTCTCTCCCAAGCCTAAGGACACC CTGATGATCTCCAGGACCCCGAAGTGACCTGCGTG GTCGTGGACGTGTCCAGGAGGACCTGAGGTGCAG TTTAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCACAAC GCCAAGACCAAGCCCAGGAGGAGCAGTTCAATAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCAC CAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAA GTCAGCAACAAGGGCTGCCCTCCTCCATCGAGAAG ACCATTAGCAAGGCAAGGGCCAGCCTAGGGAGCCT CAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCAGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAG GGATTTTACCCAGCGACATCGCTGTGGAATGGGAG AGCAATGGCCAGCCGAGAACAATAACAAGACCACC CCTCCCGTGCTCGATTCCGACGGCAGCTTTTTCCTG TACAGCAGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGGTGGCAG GAAGGCAACGTGTTCTCCTGTTCCGTGATGCATGAG GCCCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTGTCC
---	---

		CTGTCCCTGGGC
63	HC-IgG4 α FXI- 18611 (S228P) (E1) (L105) (C- концевая К отсутствует)	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSSISSGYFWG WIRQPPGKLEWIGSILHSGVTYYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC <u>CARDRTTVSLIEY</u> <u>EQHWGQGT</u> LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH ALHNHYTQKSLSLGLG
64	ДНК, кодирующая HC-IgG4 α FXI- 18611 (S228P) (Q1) (L105) xxx=GAA или GAG (E) (C-концевая К отсутствует)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGACTCGTG AAGCCCTCCGAAACCCTGAGCCTCACATGCGCCGTC TCCGGATACAGCATCAGCAGCGGATACTTCTGGGGC TGATCAGACAGCCCCCGCAAAGGCCTGGAGTGG ATCGGTCTATTCTCCACAGCGCGTGACATACTAC AACCCTCCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGCGTG GACACCTCCAAGAACCAGTTTTCCTCAAGCTGAGC AGCGTGACCGCCGCTGACACAGCCGTGATTACTGC GCCAGGGACAGGACCACCGTGTCCTGATTGAGTAC TTCCAGCATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTC AGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTCTTCCCT CTGGCCCTTGACAGAGAAGCACCTCCGAGTCCACA GCCGCCCTGGGATGCCTCGTGAAGGATTACTTCCCC GAGCCCGTCACAGTCTCCTGGAACCTCCGGCGCTCTG ACCAGCGGAGTGACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAA AGCAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTCACC GTGCCTTCTCCAGCCTGGGCACCAAGACCTACACA TGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTG GACAAGAGAGTGAAAGCAAGTACGGCCCCCCTGC CCCCCTTGCTCTGCCCCGAGTTTCTGGGAGGACCC TCCGTGTTCTCTTTCCTCCCAAGCCTAAGGACACC

		CTGATGATCTCCAGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTG GTCGTGGACGTGTCCAGGAGGACCTGAGGTGCAG TTTAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAAC GCCAAGACCAAGCCCAGGAGGAGCAGTTCAATAGC ACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCAC CAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAA GTCAGCAACAAGGGCCTGCCCTCCTCCATCGAGAAG ACCATTAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAGCCT CAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCAGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAG GGATTTTACCCAGCGACATCGCTGTGGAATGGGAG AGCAATGGCCAGCCCAGAGAACAATAAGACCACC CCTCCCGTGCTCGATTCCGACGGCAGCTTTTTCCTG TACAGCAGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGGTGGCAG GAAGGCAACGTGTTCTCCTGTTCCGTGATGCATGAG GCCCTGCACAACCACTACACACAAGAAGCCTGTCC CTGTCCCTGGGC
65	HC-IgG4 α FXI- 18623p (S228P (C- (Q1) (C- концевая К отсутствует)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSIYSGAYYW SWIRQHPGKLEWIGSIHYSGLTYNPSLKSRTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDVDDSSGDE HYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSN TKVDKRVESKYGPCCPPCPAPFETGGPSVFI.FPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLG
66	ДНК, кодирующая HC-IgG4 α FXI- 18623p (S228P (C- (Q1) xxx= CAG или CAA (Q) (C-	xxxGTCCAGCTGCAGGAATCCGGACCCGGCCTGGTG AAGCCTAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGTACCGTG TCCGGCGGAAGCATCTATTCCGGCGCCTACTACTGG TCCTGGATTAGGCAGCACCCCGCAAGGGCCTGGAA TGGATCGGCTCCATCCACTACAGCGGCCTGACCTAT

	концевая отсутствует)	K	TACAACCCCTCCCTGAAGTCCAGGGTGACCATCAGC GTCGACACAAGCAAGAACCAGTTCTCCCTCAAGCTG AGCAGCGTGACCGCCGCCGACACCGCCGTGTATTAT TGCGCCAGAGACGTGGACGACTCCTCCGGAGACGAG CACTACGGCATGGACGTCTGGGGCCAGGGCACAACA GTGACAGTGAGCAGCGCCAGCACCAAAGGACCTCC GTCTTCCCTCTGGCCCTTGCTCCAGGAGCACAAGC GAAAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGAC TACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAATAGC GGAGCCCTCACCTCCGGAGTCCACACATTTCCCGCC GTCCTGCAGAGCAGCGGCTGTACTCCCTGAGCTCC GTGGTGACCGTGCCTTCTCCAGCCTGGGCACCAAG ACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCTAGCAAT ACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAAATCCAAGTACGGC CCCCCTTGCCCTCCTTGCTCTGCCCCGAATTTCTG GGCGGCCCTTCCGTGTTCTGTTCCTCCCAAGCCC AAGGATACCCTGATGATCAGCAGGACCCCTGAGGTG ACCTGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAGGACCCC GAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGA GTGCACAATGCCAAGACAAAGCCCAGGGAGGAGCAG TTCAATAGCACCTACAGGGTGGTCAGCGTGCTCACA GTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGAAGGAGTAC AAGTGCAAAGTGTTCAACAAGGGCCTGCCCTCCTCC ATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAAGGCCAGCCC AGGGAGCCCCAAGTGTATACCTCCCCCTAGCCAG GAGGAAATGACCAAAAACCAGGTCTCCTGACCTGT CTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCTGTG GAGTGGGAGAGCAACGGCCAACCCGAGAACAACATAT AAGACCACACCCCCCGTCTGGACTCCGATGGCTCC TTCTTCCTGTACAGCAGGCTGACCGTCGACAAAGTCC AGGTGGCAGGAAGGAAACGTGTTCTCCTGTAGCGTC ATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTATACCCAGAAG TCCCTGTCCCTGAGCCTGGGC
67	HC-IgG4 18623p	α FXI- (S228P)	EVQLQESG PLVKPSQTL SL TCTVSGGSIYSGAYYW SWIRQHPGKLEWIGSIHYSGLTYYNPSLKSRTIS

	(E1) (C- концевая K отсутствует)	VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDVDDSSGDE HYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSN TKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLG
68	ДНК, кодирующая HC-IgG4 αFXI- 18623p (S228P ((E1) xxx=GAA или GAG (E) (C- концевая K отсутствует)	xxxGTCCAGCTGCAGGAATCCGGACCCGGCCTGGTG AAGCCTAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGTACCGTG TCCGGCGGAAGCATCTATTCCGGCGCCTACTACTGG TCCTGGATTAGGCAGCACCCCGGCAAGGGCCTGGAA TGGATCGGCTCCATCCACTACAGCGGCCTGACCTAT TACAACCCCTCCCTGAAGTCCAGGGTGACCATCAGC GTCGACACAAGCAAGAACCAGTTCTCCCTCAAGCTG AGCAGCGTGACCGCCGCCGACACCGCCGTGTATTAT TGCGCCAGAGACGTGGACGACTCCTCCGGAGACGAG CACTACGGCATGGACGTCTGGGGCCAGGGCACAACA GTGACAGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGACCCTCC GTCTTCCCTCTGGCCCCCTTGCTCCAGGAGCACAAGC GAAAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGAC TACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAATAGC GGAGCCCTCACCTCCGGAGTCCACACATTTCCCGCC GTCTTGACAGAGCAGCGCCTGTACTCCCTGAGCTCC GTGGTGACCGTGCCCTTCTCCAGCCTGGGCACCAAG ACCTACACCTGCAACGTGGACCACAAGCCTAGCAAT ACCAAGGTGGACAAGAGGGTGGAATCCAAGTACGGC CCCCCTTGCCCTCCTTGCTCCTGCCCCGAATTTCTG GGCGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCTCCCAAGCCC AAGGATACCCTGATGATCAGCAGGACCCCTGAGGTG ACCTGTGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAGGACCCC GAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAA

		GTGCACAATGCCAAGACAAAGCCCAGGGAGGAGCAG TTCAATAGCACCTACAGGGTGGTCAGCGTGCTCACA GTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTAC AAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCTCC ATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAAGGCCAGCCC AGGGAGCCCCAAGTGTATACCCTCCCCCTAGCCAG GAGGAAATGACCAAAAACCAGGTCTCCCTGACCTGT CTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCTGTG GAGTGGGAGAGCAACGGCCAACCCGAGAACAATAT AAGACCACACCCCCCGTCTGGACTCCGATGGCTCC TTCTTCCTGTACAGCAGGCTGACCGTCGACAAGTCC AGGTGGCAGGAAGGAAACGTGTTCTCCTGTAGCGTC ATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTATACCCAGAAG TCCCTGTCCCTGAGCCTGGGC
69	HC IgG1 α FXI- 18611p (Q1) (M105) (C- концевая К отсутствует)	<u>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG</u> WIRQPPGKLEWIGS <u>ILHSGVTYYNPSLKSRVTISV</u> DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD <u>RTTVSMIEY</u> <u>EQHWGQGT</u> LVTVSS <u>A</u> STKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
70	ДНК, кодирующая HC IgG1 α FXI- 18611p (Q1) (M105) xxx= CAG или САА (Q) (C- концевая К отсутствует)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGCCTGGTG AAGCCTAGCGAGACACTGTCCCTGACCTGCGCCGTG AGCGGCTACAGCATCTCCAGCGGCTATTTCTGGGGA TGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGG ATCGGTTCTATCCTGCACTCCGGCGTGACATACTAT AACCTAGCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCTCCGTG GATACCAGCAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGCTCAGC AGCGTGACCGCCGCCGATACCGCTGTGTACTACTGC

		GCCAGAGACAGGACCACCGTCTCCATGATCGAGTAC TTCCAGCACTGGGGCCAAGGCACCTGGTCACCGTG TCCTCCGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTC CTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGCGGAACA GCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCT GAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGAGCCCTG ACATCCGGCGTGACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAA TCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCGTGACA GTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATT TGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACCTAAGGTG GACAAAAAGGTGAACCCAAATCCTGTGATAAGACC CATACATGCCACCTTGTCCGCTCCTGAGCTGCTG GGGGACCTTCGCTCTTCTGTTTCTCCAAAACCA AAAGACACACTCATGATCAGCCGGACCCCGAAGTC ACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCACGAAGATCCA GAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGAA GTCCACAACGCAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAG TACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCTGACA GTGCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTAT AAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCA ATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGCAGCCA CGGGAACCCAGGTGTATACCCTGCCCAAGCCGG GATGAAGTACCAAAAACAGGTCAGCCTGACATGC CTGGTGAAAGGGTTTACCCAAGCGATATTGCCGTC GAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTAC AAAACCACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGC TTTTTCCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCC AGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCTGCTCCGTG ATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAG TCCCTCTCCCTCAGCCCAGGA
71	HC IgG1 αFXI- 18611p (E1) (M105) (C- концевая K отсутствует)	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG WIRQPPGKLEWIGSILHSGVTYYNPSLKSSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRTTVSMIEY FQHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ

		SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
72	ДНК, кодирующая НС IgG1 α FXI- 18611p (Q1) (M105) xxx=GAA или GAG (E) (C- концевая K отсутствует)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGCCTGGTG AAGCCTAGCGAGACACTGTCCCTGACCTGCGCCGTG AGCGGCTACAGCATCTCCAGCGGTATTTCTGGGGA TGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGG ATCGGTTCTATCCTGCACTCCGGCGTGACATACTAT AACCCCTAGCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCTCCGTG GATACCAGCAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGCTCAGC AGCGTGACCGCCCGGATACCGCTGTGTACTACTGC GCCAGAGACAGGACCACCGTCTCCATGATCGAGTAC TTCCAGCACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTCACCGTG TCCTCCGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTCCTCA CTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGCGGAACA GCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCT GAGCCAGTCACAGTGTCTTGGAACTCCGGAGCCCTG ACATCCGGCGTGACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAA TCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGTCCGTCGTGACA GTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATT TGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTG GACAAAAAGGTGAACCCAAATCCTGTGATAAGACC CATACATGCCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTG GGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCAAAACCA AAAGACACACTCATGATCAGCCGGACCCCGAAGTC ACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCACGAAGATCCA GAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAA GTCCACAACGCAAAAACAAACCTAGAGAAGAACAG TACAATAGCACATACAGGTGGTGTCCGTCTGACA GTGCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTAT

		AAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCA ATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCA CGGGAACCCCAAGGTGTATACCCTGCCCCCAAGCCGG GATGAACTGACCAAAAACCAGGTCAGCCTGACATGC CTGGTGAAAGGGTTTACCCAAGCGATATTGCCGTC GAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTAC AAAACCACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGC TTTTTCCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCC AGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCTGCTCCGTG ATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAG TCCCTCTCCCTCAGCCAGGA
73	HC IgG1 α FXI- 18611 (Q1) (L105) (C- концевая К отсутствует)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSSISSGYFWG WIRQPPGKGLEWIGSILHSGVTYYNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRTTVSLIEY FOHWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
74	ДНК, кодирующая HC IgG1 α FXI- 18611 (Q1) (L105) xxx= CAG или САА (Q) (C-концевая К отсутствует)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGACTCGTG AAGCCCTCCGAAACCCTGAGCCTCACATGCGCCGTC TCCGGATACAGCATCAGCAGCGGATACTTCTGGGGC TGGATCAGACAGCCCCCGGCAAAGGCCCTGGAGTGG ATCGGTTCTATTCTCCACAGCGGCGTGACATACTAC AACCCTCCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGCGTG GACACCTCCAAGAACCAGTTTTCCCTCAAGCTGAGC AGCGTGACCGCCGCTGACACAGCCGTGATTACTGC GCCAGGGACAGGACCACCGTGTCCCTGATTGAGTAC TTCCAGCATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTC AGCAGCGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTTCCA

		CTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGGCGGAACA GCAGCCCTCGGGTGCTGGTGAAGGATTACTTCCCT GAGCCAGTCACAGTGTCTGGAATCCGGAGCCCTG ACATCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTGCTGCAA TCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCGTGACA GTCCCTTCCAGCAGCTGGGCACACAGACTTACATT TGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTG GACAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACC CATACATGCCCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTG GGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCTCCAAAACCA AAAGACACACTCATGATCAGCCGACCCCCGAAGTC ACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCACGAAGATCCA GAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAA GTCCACAACGCAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAG TACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCTGACA GTGCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTAT AAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCA ATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCA CGGGAACCCAGGTGTATACCCTGCCCCAAGCCGG GATGAACTGACCAAAAACCAGGTCAGCCTGACATGC CTGGTGAAAGGGTTTACCCAAGCGATATTGCCGTC GAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTAC AAAACCACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGC TTTTTCCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCC AGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTCTGCTCCGTG ATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAG TCCCTCTCCCTCAGCCCAGGA
75	HC IgG1 α FXI- 18611 (E1) (L105) (C- концевая К отсутствует)	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYFWG WIRQPPGKLEWIGSILHSGVTYYNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRTTVSLIEY FOHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE

		VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
76	ДНК, кодирующая HC IgG1 αFXI- 18611 (E1) (L105) xxx=GAA или GAG (E) (С-концевая К отсутствует)	xxxGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCTGGACTCGTG AAGCCCTCCGAAACCCTGAGCCTCACATGCGCCGTC TCCGGATACAGCATCAGCAGCGGATACTTCTGGGGC TGGATCAGACAGCCCCCGGCAAAGGCTGGAGTGG ATCGGTTCTATTCTCCACAGCGGCGTGACATACTAC AACCCCTCCCTGAAGAGCAGGGTGACCATCAGCGTG GACACCTCCAAGAACCAGTTTTCCTCAAGCTGAGC AGCGTGACCGCCGCTGACACAGCCGTGTATTACTGC GCCAGGGACAGGACCACCGTGTCCCTGATTGAGTAC TTCCAGCATTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTC AGCAGCGCTAGCACAAAAGGACCAAGCGTGTTTCCA CTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGCGGCGGAACA GCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGATTACTTCCCT GAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCCGGAGCCCTG ACATCCGGCGTGACACCTTCCCCGCTGTGTGCAA TCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCCGTCGTGACA GTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAGACTTACATT TGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAACACTAAGGTG GACAAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGTGATAAGACC CATACATGCCACCTTGTCCCGCTCCTGAGCTGCTG GGGGGACCTTCCGCTTTCTGTTCCTCCAAAACCA AAAGACACACTCATGATCAGCCGACCCCCGAAGTC ACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCACGAAGATCCA GAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGATGGAGTGGAA GTCCACAACGCAAAAACCAACCTAGAGAAGAACAG TACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCCGTCCTGACA GTGCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAAGAGTAT AAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTGCCTGCACCA ATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAGGGGCAGCCA CGGGAACCCAGGTGTATACCCTGCCCCCAAGCCGG

		GATGAACTGACCAAAAACAGGTCAGCCTGACATGC CTGGTGAAAGGGTTTTACCCAAGCGATATTGCCGTC GAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAAAACAATTAC AAAACCACCCACCTGTGCTGGACTCCGATGGGAGC TTTTTCCTGTACAGCAAGCTCACAGTGGACAAGTCC AGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCTGCTCCGTG ATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTATACACAAAAG TCCCTCTCCCTCAGCCCAGGA
77	HC IgG1 α FXI- 18623p (1Q) (C- концевая К отсутствует)	<u>QVQLQESGPGLVKPSQTL</u> SLTCTVSGGSIYSGAYYW <u>SWIRQHPGKLEWIGSIHY</u> SGLTYYNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDVDSSGDE <u>HYGMDVWGQGT</u> TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYCKKVSNAKALPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLF PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
78	ДНК, кодирующая HC IgG1 α FXI- 18623p (1Q) xxx= CAG или CAA (Q) (C- концевая К отсутствует)	xxxGTCCAGCTGCAGGAATCCGGACCCGGCCTGGTG AAGCCTAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGTACCGTG TCCGGCGGAAGCATCTATTCCGGCGCCTACTACTGG TCCTGGATTAGGCAGCACCCCGGCAAGGGCCTGGAA TGGATCGGCTCCATCCACTACAGCGGCTGACCTAT TACAACCCCTCCCTGAAGTCCAGGGTGACCATCAGC GTCGACACAAGCAAGAACCAGTTCTCCCTCAAGCTG AGCAGCGTGACCGCCGCCGACACCGCCGTGTATTAT TGCGCCAGAGACGTGGACGACTCCTCCGGAGACGAG CACTACGGCATGGACGTCTGGGGCCAGGGCACAACA GTGACAGTGAGCAGCGCTAGCACAAAAGGACCAAGC GTGTTTCCACTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGC GGCGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCTGGTGAAGGAT TACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTCC

		GGAGCCCTGACATCCGGCGTGACACCTTCCCCGCT GTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCC GTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAG ACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAAC ACTAAGGTGGACAAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGT GATAAGACCCATACATGCCCCACCTTGTCCTCGCTCCT GAGCTGCTGGGGGGACCTTCCGTCTTTCTGTTTCCT CCAAAACCAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACC CCCGAAGTCACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCAC GAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGAT GGAGTGAAGTCCACAACGCAAAACCAAACCTAGA GAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGGTGGTGTC GTCCTGACAGTGCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGC AAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTG CCTGCACCAATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAG GGGCAGCCACGGGAACCCAGGTGTATACCCTGCC CCAAGCCGGGATGAACTGACCAAAACCAAGTCAGC CTGACATGCCTGGTGAAGGGTTTTACCCAAGCGAT ATTGCCGTCGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAA ACAATTACAAAACCAACCCACCTGTGCTGGACTCC GATGGGAGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTG GACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCC TGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTAT ACACAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGA
79	HC IgG1 α FXI- 18623p (1E) (C- концевая К отсутствует)	<u>EVQLQESGPGLVKPSQTL</u> SLTCTVSGGSIYSGAYYW SWIRQHPGKLEWIGSIHYSGLTYYNPSLKSRTVIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDVDDSSGDE <u>HYGMDVWGQGT</u> TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE

		<i>NNYKTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS</i> <i>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
80	ДНК, кодирующая HC IgG1 α FXI- 18623p (1E) xxx=GAA или GAG (E) (С-концевая К отсутствует)	xxxGTCCAGCTGCAGGAATCCGGACCCGGCCTGGTG AAGCCTAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGTACCGTG TCCGGCGGAAGCATCTATTCCGGCGCCTACTACTGG TCCTGGATTAGGCAGCACCCCGGCAAGGGCCTGGAA TGGATCGGCTCCATCCACTACAGCGCCTGACCTAT TACAACCCCTCCCTGAAGTCCAGGGTGACCATCAGC GTCGACACAAGCAAGAACCAGTTCTCCCTCAAGCTG AGCAGCGTGACCGCCGCCGACACCGCGTGTATTAT TGCGCCAGAGACGTGGACGACTCCTCCGGAGACGAG CACTACGGCATGGACGTCTGGGGCCAGGGCACAACA GTGACAGTGAGCAGCGCTAGCACAAAAGGACCAAGC GTGTTTCCACTGGCACCTAGCAGCAAATCCACCAGC GGCGGAACAGCAGCCCTCGGGTGCCCTGGTGAAGGAT TACTTCCCTGAGCCAGTCACAGTGTCTGGAACCTC GGAGCCCTGACATCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCT GTGCTGCAATCCAGCGGACTGTATAGCCTCAGCTCC GTCGTGACAGTCCCTTCCAGCAGCCTGGGCACACAG ACTTACATTTGCAACGTGAACCACAAACCTTCCAAC ACTAAGGTGGACAAAAGGTGGAACCCAAATCCTGT GATAAGACCCATACATGCCACCTTGTCCCGCTCCT GAGCTGCTGGGGGGACCTTCCGTCTTCTGTTCCT CCAAAACCAAAGACACACTCATGATCAGCCGGACC CCCGAAGTCACCTGTGTGGTGGTGGACGTCAGCCAC GAAGATCCAGAGGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGAT GGAGTGGAAGTCCACAACGCAAAAACCAAACCTAGA GAAGAACAGTACAATAGCACATACAGGGTGGTGTCC GTCCTGACAGTGCTCCACCAGGACTGGCTCAATGGC AAAGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAACAAGGCCCTG CCTGCACCAATTGAGAAAACAATTAGCAAGGCAAAG GGGCAGCCACGGGAACCCAGGTGTATACCCTGCC CCAAGCCGGGATGAACTGACCAAAAACCAAGTCAGC CTGACATGCCTGGTGAAAGGGTTTACCCAAGCGAT ATTGCCGTCGAGTGGGAGAGCAACGGACAGCCAGAA

		AACAAATTACAAAACACCCACCTGTGCTGGACTCC GATGGGAGCTTTTTCTGTACAGCAAGCTCACAGTG GACAAGTCCAGATGGCAACAGGGCAACGTGTTTTCC TGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTCCACAACCACTAT ACACAAAAGTCCCTCTCCCTCAGCCCAGGA
81	Человеческий FXI	ECVTQLLKDTCFEGGDITTVFTPSAKYCQVVCTYHP RCLLFTFTAESPSEDPTRWFTCVLKDSVTETLPRVN RTAAISGYSFKQCSHQISACNKDIYVDLDMKGINYN SSVAKSAQECQERCTDDVHCHFFTYATRQFPSLEHR NICLLKHTQTGTPTRITKLDKVVSGFSLKSCALSNL ACIRDIFPNTVFADSNIDSVMAPDAFVCGRICTHHP GCLFFTTFFSQEWPKEQORNLCLLKTSSEGLPSTRIK KSKALSGFSLQSCRHSIPVFCHSSFYHDTDFLGEEL DIVAAKSHEACQKLCCTNAVRCQFFTYTPAQASCNEG KGKCYLKLSSNGSP TKILHGRGGISGYTLRLCKMDN ECTTKIKPRIVGGTASVRGEWPWQVTLHTTSPTQRH LCGGSIIGNQWILTAHCFYGVESPKILRVYSGILN QSEIKEDTSFFGVQEII IHDQYKMAESGYDIALLLK ETTVNYTDSQRPICLPSKGDNRNVIYTDWVTGWGYR KLRDKIQNTLQKAKIPLVTNEECQKRYRGHKITHKM ICAGYREGGKJACKGDSGGPLSCKHNEVWHLVGITS WGECAQREPRPGVYTNVVEYVDWILEKTQAV
82	Эпитоп А	DIFPNTVF
83	Эпитоп В	PSTRIKSKALSG
84	Легкая цепь каппа антитела к RSV	MAPVQLLGLLVFLPAMRCIQMTQSPSTLSASVGD RVTITCKCQLSVGYMHWYQQKPGKAPKLLIYDTSKL ASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCFQ GSGYPFTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK <u>SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES</u> <u>VTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH</u> <u>QGLSSPVTKSFNRGEC</u>
85	HC IgG4 (S228P) к RSV	MAVVQLLGLLVFLPAMRCQVTLRESGPALVKPTQT LTLTCTFSGFSLSTSGMSVGWIRQPPGKALEWLADI WWDDKKDYNPSLKSRLTISKDTSKNQVVLKVTNMDP ADTATYYCARSMITNWFYFDVWGAGTTVTVSSASTKG
		<u>PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW</u> <u>NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLG</u> <u>TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPEAPE</u> <u>FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSVQE</u> <u>DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV</u> <u>LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKG</u> <u>QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI</u> <u>AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD</u> <u>KSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK</u>
Константные области показаны курсивом. Подчеркнутые аминокислотные последовательности представляют собой CDR.		

Хотя настоящее изобретение описано в настоящем документе со ссылкой на иллюстративные варианты осуществления, следует понимать, что изобретение ими не ограничено. Специалисты с обычными навыками в этой области и имеющие доступ к описанию в настоящем документе понимают дополнительные модификации и варианты осуществления в его объеме. Таким образом, настоящее изобретение ограничено только формулой изобретения, прилагаемой к настоящему документу.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI), содержащие:

(a) определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 8, HC-CDR 2, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 9, и HC-CDR 3, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 10; и

(b) определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 11, LC-CDR 2, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 12, и LC-CDR 3, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 13, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент предназначены для лечения тромбозмболического нарушения или заболевания.

2. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 28 или 29, и переменный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 30.

3. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.1 или 2, где антитело содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16, 17, 18 или 19.

4. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-3, где антитело содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

5. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где антитело или фрагмент антитела содержит:

(a) переменный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 28, и переменный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 30; или

(b) переменный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 29, и переменный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 30.

6. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.5, где антитело дополнительно содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16, 17, 18 или 19.

7. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.5, где антитело дополнительно содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

8. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по пп.1-7, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

9. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где антитело содержит:

(a) тяжелую цепь с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 8, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 9, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 10; и

(b) легкую цепь с константным доменом и переменным доменом, где переменный домен содержит определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 11, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 12, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 13.

10. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.9, где антитело содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16, 17, 18 или 19.

11. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.9, где антитело содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

12. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где антитело содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 41, 43, 53, 55, 65, 67, 77 или 79; и

легкую цепь с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 31, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI) и ингибирует активацию FXI и/или опосредованную фактором XIa активацию фактора IX.

13. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая переменный домен легкой цепи

любого из антител или антигенсвязывающих фрагментов по пп.1-12.

14. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный домен тяжелой цепи любого из антител или антигенсвязывающих фрагментов по пп.1-12.

15. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи любого из антител или антигенсвязывающих фрагментов по пп.1-12.

16. Композиция для лечения тромбозмболического нарушения или заболевания, содержащая анти-тело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-12 и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

17. Применение антитела по любому из пп.1-12 для получения лекарственного средства для лечения тромбозмболического нарушения или заболевания.

18. Способ получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, содержащего:

(i) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий определяющую комплементарность область тяжелой цепи (HC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 8, HC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 9, и HC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 10; и

(ii) вариабельный домен легкой цепи, содержащий определяющую комплементарность область легкой цепи (LC-CDR) 1 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 11, LC-CDR 2 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 12, и LC-CDR 3 с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 13, способ, включающий

создание клетки-хозяина, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую тяжелую цепь, и молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую легкую цепь; и культивирование клетки-хозяина в условиях и в течение времени, достаточных для получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

19. Способ по п.18, где вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28 или 29 и вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30.

20. Способ по п.18, где антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

21. Способ по п.18, где антитело содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG4.

22. Способ по п.18, где антитело содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16, 17, 18 или 19.

23. Способ по п.18, где легкая цепь содержит легкую цепь каппа человека или легкую цепь лямбда человека.

24. Способ по п.18, где антитело содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

25. Способ по п.18, где клетка-хозяин представляет собой клетку яичника китайского хомяка или клетку 293 эмбриональной почки человека.

26. Способ по п.18, где клетка-хозяин представляет собой клетку дрожжей или нитевидного гриба.

27. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI), содержащие вариабельный домен (V_H) тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 29, и вариабельный домен (V_L) легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 30.

28. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.27, где антитело дополнительно содержит константный домен тяжелой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 16 или 17, и константный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 20.

29. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.25, где антитело дополнительно содержит константный домен тяжелой цепи изотипа IgG1, который не содержит N-гликозилирование аспарагина в положении 297.

30. Композиция для лечения тромбозмболического нарушения или заболевания, содержащая анти-тело или антигенсвязывающий фрагмент по п.27 и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

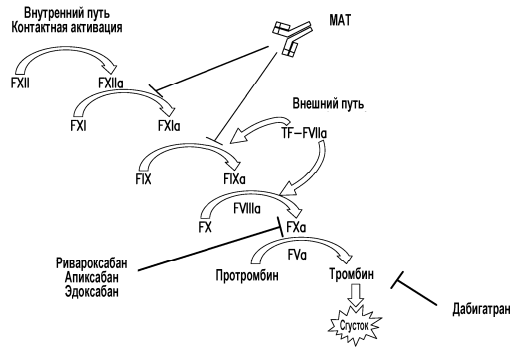
31. Антитело, которое связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI), содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 43, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 31.

32. Композиция для лечения тромбозмболического нарушения или заболевания, содержащая анти-тело, которое связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI), где антитело содержит тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 43, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 31, и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

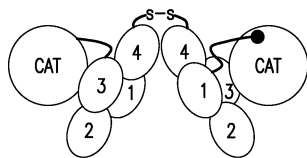
33. Антитело, которое связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI), содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 67, и легкую

цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 31.

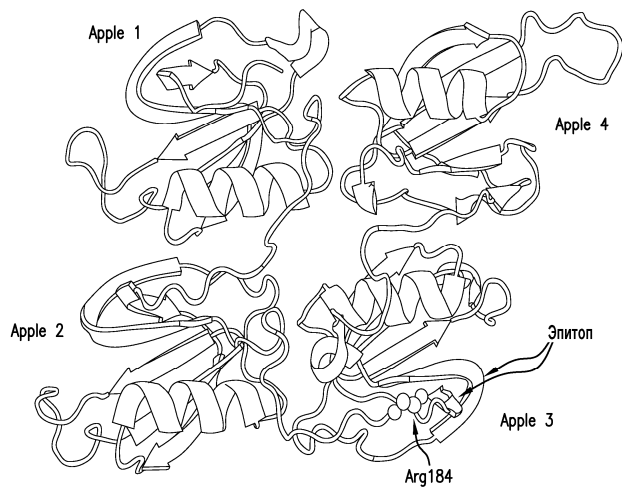
34. Композиция для лечения тромбозмболического нарушения или заболевания, содержащая анти-тело, которое связывается с доменом apple 3 фактора свертывания XI (FXI), где антитело содержит тяже-лую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 67, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 31, и фармацевтически при-емлемый носитель или разбавитель.



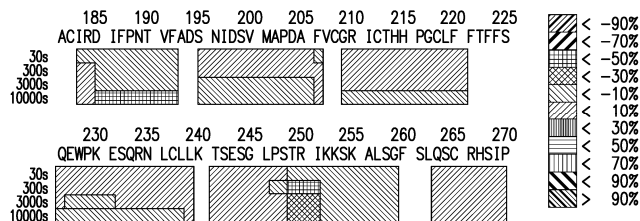
Фиг. 1А



Фиг. 1В

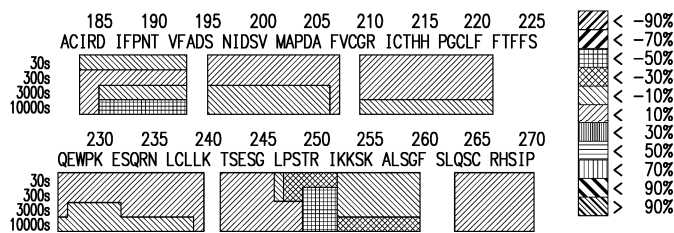


Фиг. 2



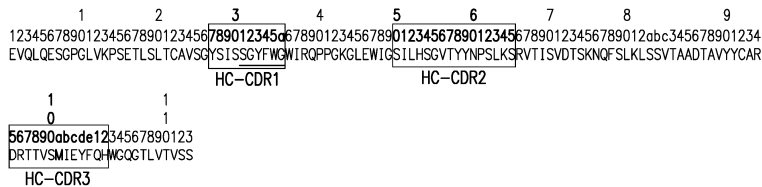
Фиг. 3А

043303

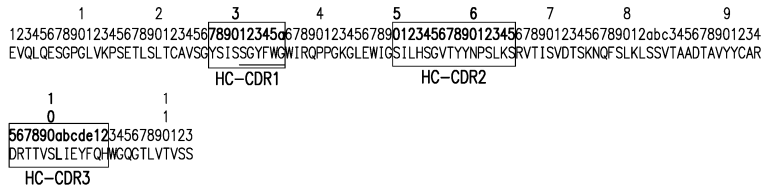


Фиг. 3B

Варибельный домен тяжелой цепи α FXI-18611p(E1)(M105) (SEQ ID NO:22)

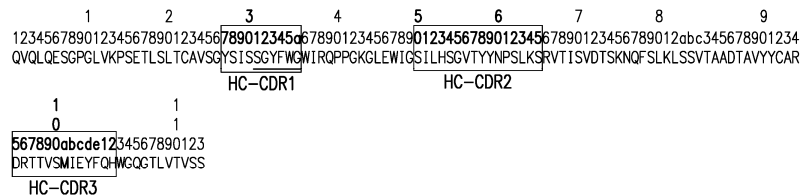


Варибельный домен тяжелой цепи α FXI-18611(E1)(L105) (SEQ ID NO:24)

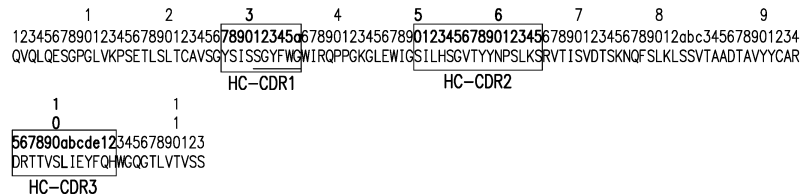


Фиг. 4A

Варибельный домен тяжелой цепи α FXI-18611p(Q1)(M105) (SEQ ID NO:21)

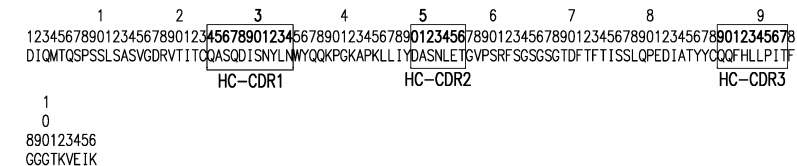


Варибельный домен тяжелой цепи α FXI-18611(Q1)(L105) (SEQ ID NO:23)



Фиг. 4B

Варибельный домен легкой цепи семейств α FXI-18611p и α FXI-18611 (SEQ ID NO:25)



Фиг. 4C

043303

Вариабельный домен тяжелой цепи α FXI-18623p(Q1) (SEQ ID NO:28)

[illegible]

Вариабельный домен тяжелой цепи α FXI-18623p(E1) (SEQ ID NO:29)

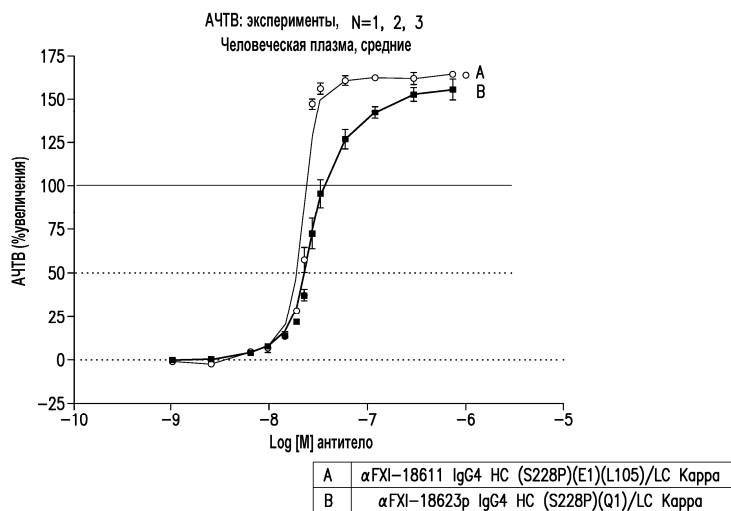
[illegible]

ФИГ. 5А

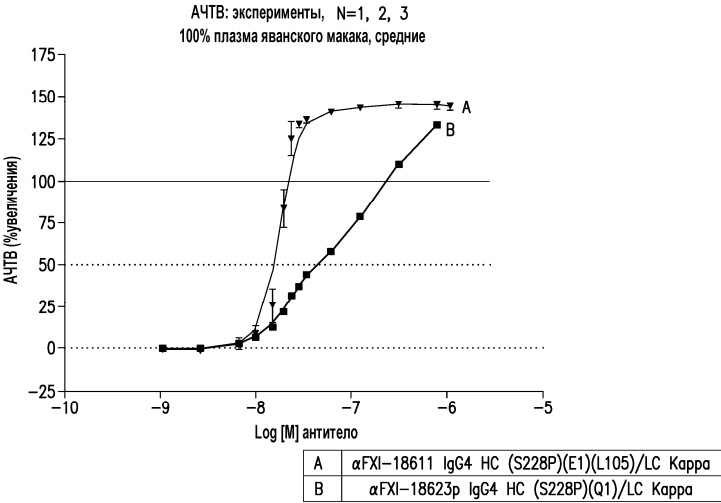
Вариабельный домен легкой цепи семейства α FXI-18623p (SEQ ID NO:30)

[illegible]

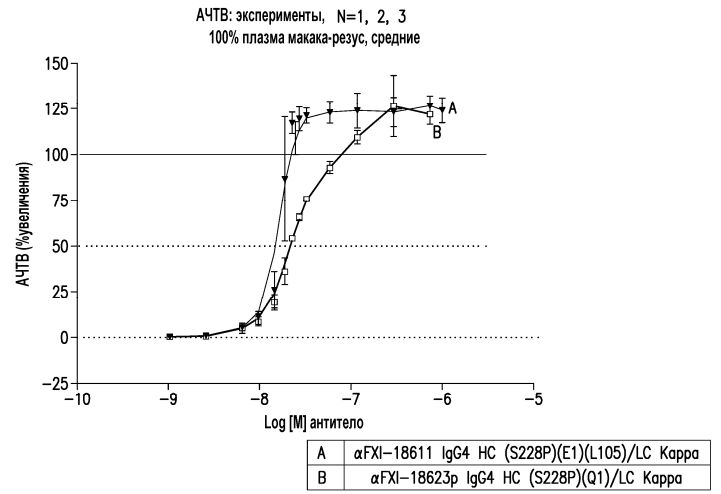
ФИГ. 5В



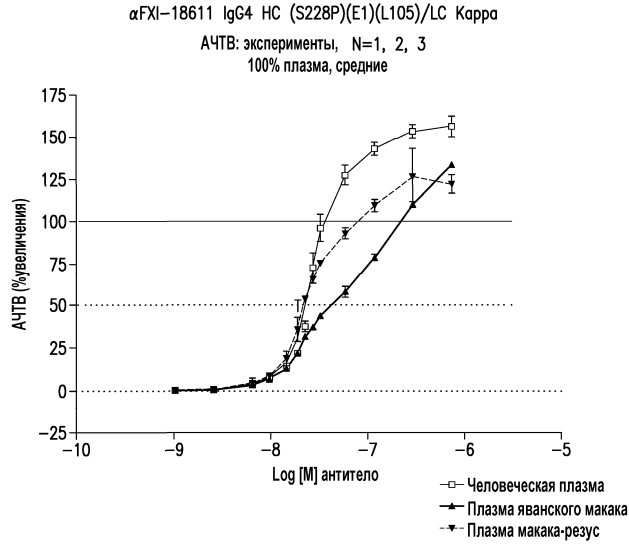
ФИГ. 6



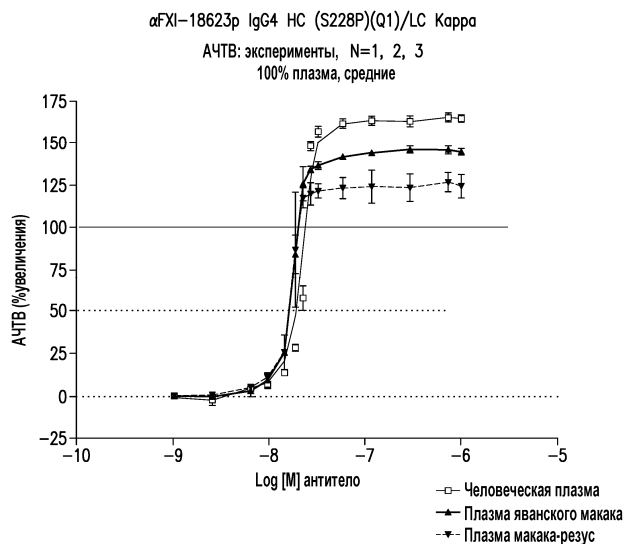
Фиг. 7



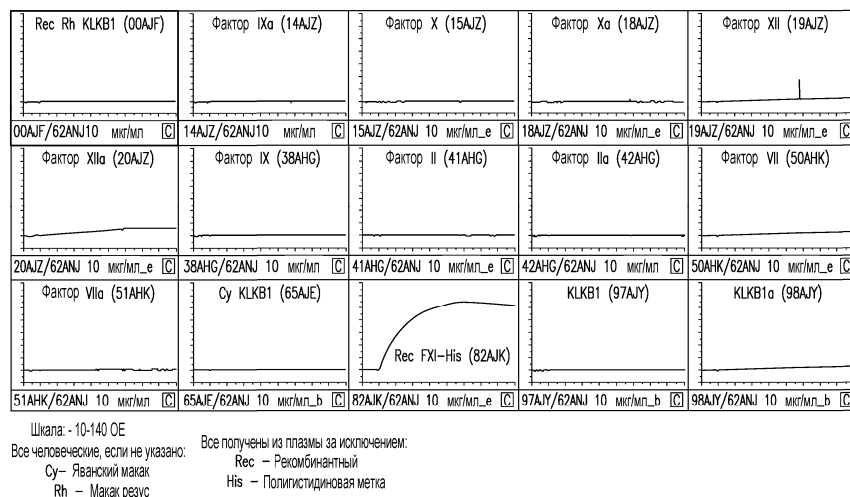
Фиг. 8



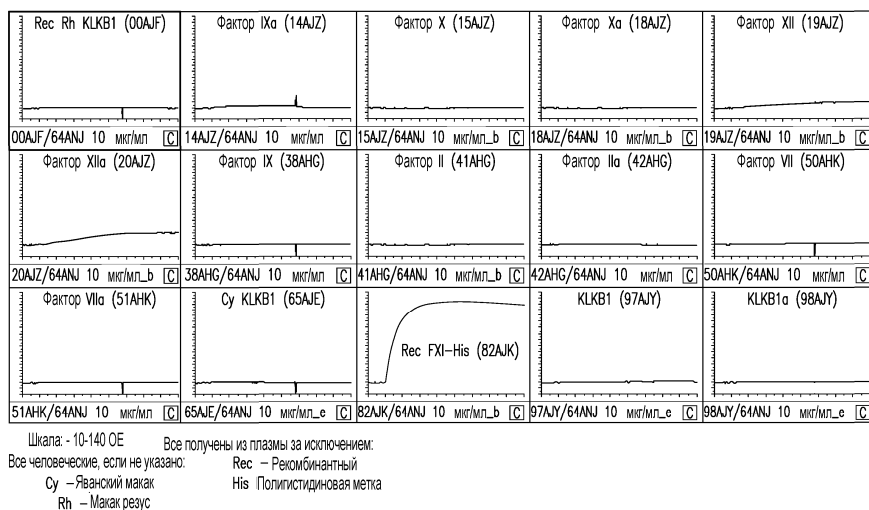
Фиг. 9



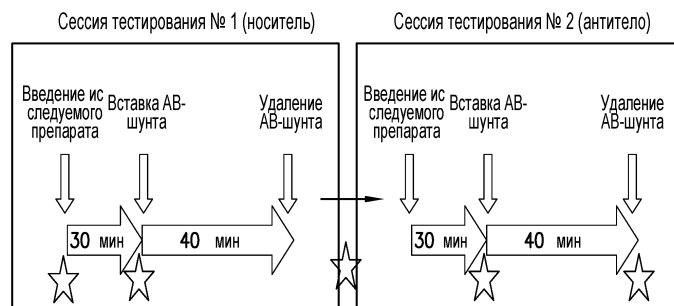
Фиг. 10



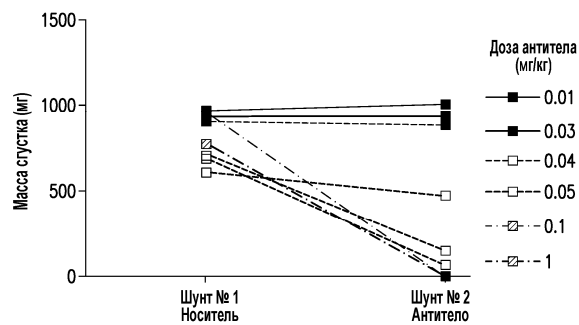
Фиг. 11



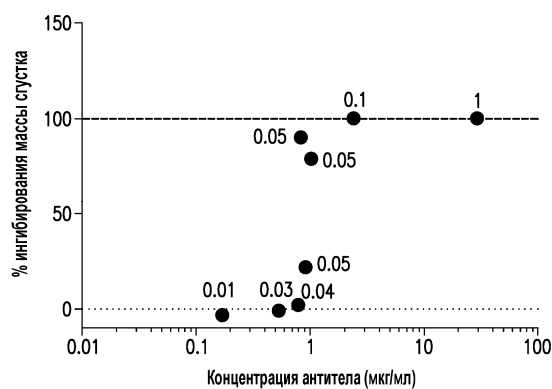
Фиг. 12



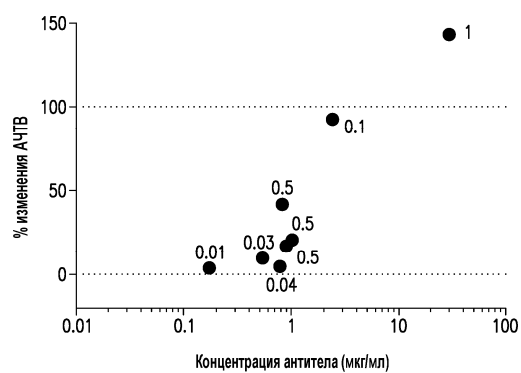
Фиг. 13



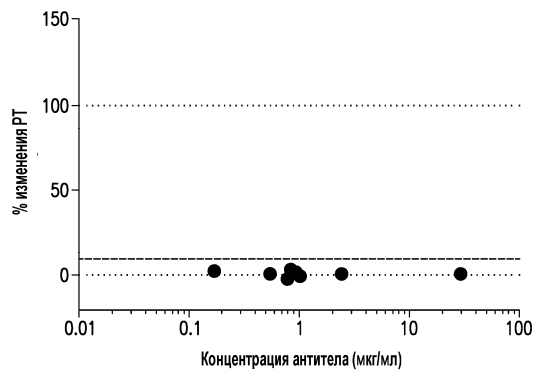
Фиг. 14А



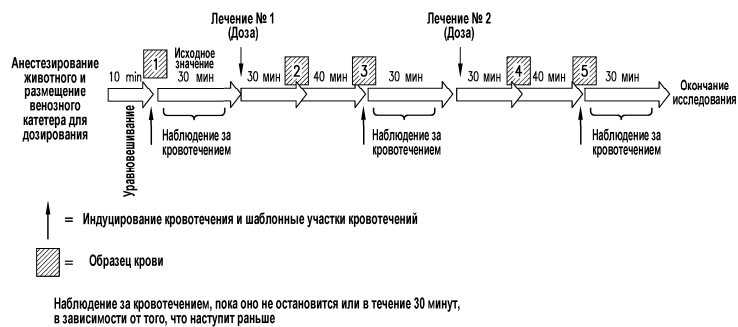
Фиг. 14В



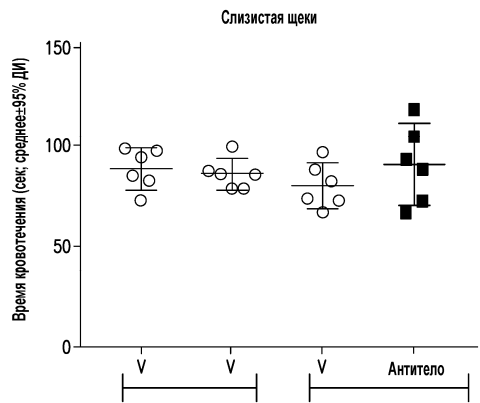
Фиг. 14С



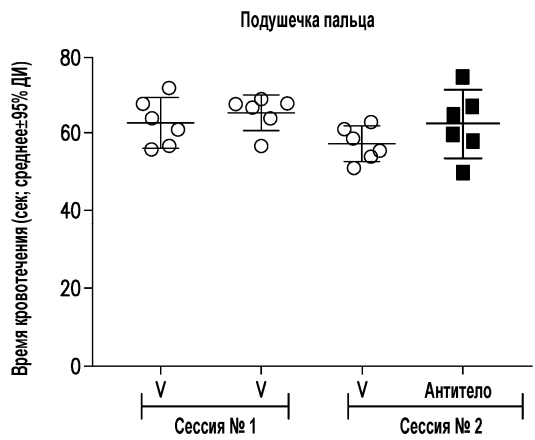
Фиг. 14D



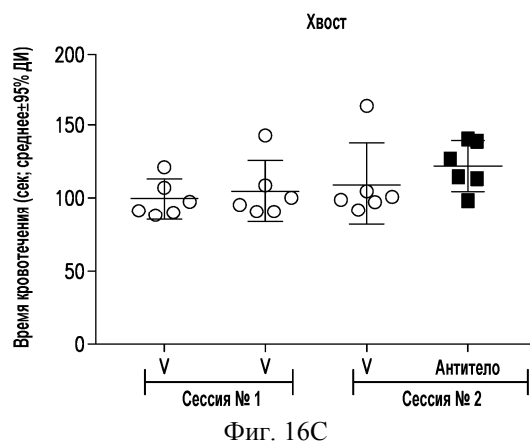
Фиг. 15



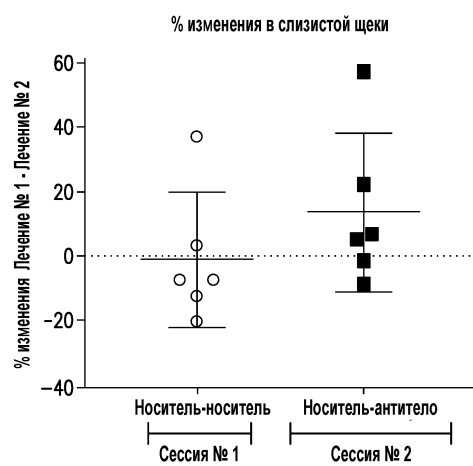
Фиг. 16А



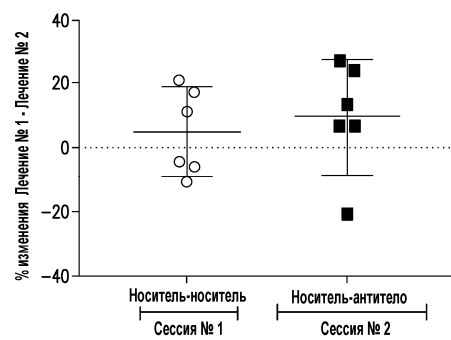
Фиг. 16В



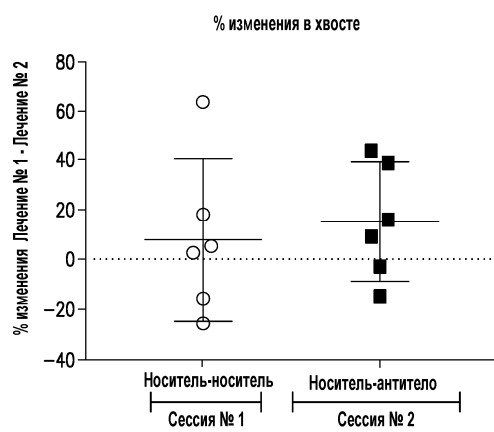
Фиг. 16С



Фиг. 16D



Фиг. 16Е



Фиг. 16F

