

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390290 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.03.13(51) Int. Cl. A61K 39/00 (2006.01)
A61K 35/00 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2021.07.10(54) ЛЕЧЕНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНТИТЕЛ
К ТКАНЕВОМУ ФАКТОРУ

(31) 63/050,629

(32) 2020.07.10

(33) US

(86) PCT/US2021/041192

(87) WO 2022/011324 2022.01.13

(71) Заявитель:

АЙКОНИК ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)

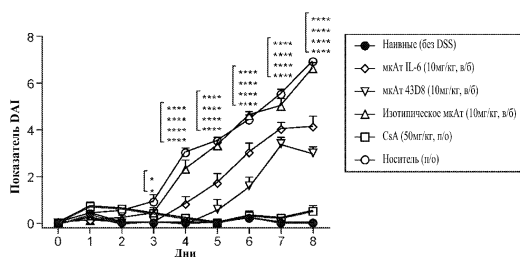
(72) Изобретатель:

Мигон Ти-Сау, Грин Уилльям (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В изобретении предложены антитела, которые специфически связываются с тканевым фактором (TF) человека, конъюгаты антитело к TF - лекарственное средство (ADC) и композиции, содержащие антитела или ADC, для лечения воспалительных заболеваний. Также в данном документе предложены способы лечения субъектов, имеющих воспалительные заболевания, путем введения антител к TF или ADC.



* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,005$ **** $p < 0,0001$, против носителя, дисперсионный анализ

202390290

A1

A1

202390290

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-577213EA/042

ЛЕЧЕНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНТИТЕЛ К ТКАНЕВОМУ ФАКТОРУ

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка испрашивает приоритет и преимущество по предварительной заявке на патент США № 63/050629, поданной 10 июля 2020 г., содержание которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Данная заявка содержит перечень последовательностей, поданный в электронном виде в формате ASCII и включенный в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Указанная копия ASCII, созданная 08 июля 2021 г., называется ITI-005WO_SL.txt и имеет размер 466223 байта.

Уровень техники

[0003] Коагуляция крови включает сложный набор процессов, которые приводят к свертыванию крови. Тканевый фактор (TF) играет важную роль в этих процессах коагуляции. TF представляет собой рецептор клеточной поверхности. Комплекс TF/FVIIa катализирует превращение неактивного фактора протеазы X (FX) в активный фактор протеазы Xa (FXa). FXa и его кофактор FVa образуют комплекс протромбиназы, который создает тромбин из протромбина. Тромбин превращает растворимый фибриноген в нерастворимые нити фибрина и катализирует многие другие процессы, связанные с коагуляцией.

[0004] Воспалительные заболевания включают широкий спектр нарушений и патологических состояний, характеризующихся воспалением (локальным или системным). Во время воспаления происходит изменение сосудистой динамики и рекрутирование врожденных и адаптивных иммунных клеток к месту повреждения или заболевания. Воспаление необходимо для защиты тела от инородных тел и необходимо для заживления ран; однако при аутоиммунных и/или воспалительных заболеваниях иммунная система запускает воспалительный ответ в отсутствие чужеродного вещества для борьбы, и нормальная защитная иммунная система организма ошибочно атакует сама себя, тем самым поражая собственные ткани. Воспалительные заболевания продолжают оставаться бременем для пациентов из-за изнурительной болезни на протяжении всей жизни, повышенной смертности и высоких затрат на терапию и уход.

[0005] Считается, что TF играет роль в заболеваниях, характеризующихся местным и системным воспалением, но на сегодняшний день нет одобренных антител к TF, показанных для лечения воспалительных заболеваний. Аспекты антител к TF, конъюгатов антител к TF - лекарственное средство (ADC) и способы, включающие применение антител к TF и ADC по данному описанию, описаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427, заявке на полезную модель США № 16/959652 и предварительных заявках на патенты США №№ 62/713797; 62/713804; 62/646788; 62/613545; и 62/613564,

полностью включенных в данный документ посредством ссылки для всех целей.

Сущность изобретения

[0006] В данном документе предложены антитела, которые специфически связываются с тканевым фактором человека (TF), конъюгаты антител к TF-лекарственное средство и связанные способы. В данном документе предложены способы лечения воспалительных заболеваний путем введения антитела или ADC по настоящему изобретению.

[0007] В одном аспекте в данном документе предложен способ лечения воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту выделенного антитела, при этом антитело связывается с внеклеточным доменом тканевого фактора человека (TF), при этом антитело связывается с TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека.

[0008] В некоторых вариантах осуществления вирусная инфекция представляет собой коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2). В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание выбрано из: колита, воспалительного заболевания кишечника, артрита, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и респираторно-синцитиального вируса (РСВ). В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой колит. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой воспалительное заболевание кишечника (ВЗК). В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой артрит. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой острое повреждение легких. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой ОРДС. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой РСВ. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой сердечно-сосудистое заболевание или травму. В некоторых вариантах осуществления заболевание или повреждение сердца представляет собой инфаркт миокарда. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой сердечно-сосудистое заболевание, связанное с повышением уровня активируемого протеазой рецептора 2 (PAR-2).

[0009] В некоторых вариантах осуществления антитело не ингибирует образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления выделенное человеческое антитело не ингибирует или ингибирует образование тромбина у человека в меньшей степени, как определено с помощью анализа образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность V_H с SEQ ID NO:821 и последовательность V_L с SEQ ID NO:822. В некоторых вариантах осуществления связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в

аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три определяющих комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из группы антител в таблице 35, где все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи получены из одной и той же группы антител.

[0010] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три определяющих комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из антитела в любой из таблиц 15-34, где все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи получены из одного и того же антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-T, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, антитела, обозначенного 25G9, антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-T, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, или антитела, обозначенного 25G9.

[0011] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность домена VH и последовательность домена VL из таблицы 14, где последовательности домена VH и VL получены из одной и той же группы в таблице 14. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность домена VH и последовательность домена VL из таблицы 13, где последовательности домена VH и VL получены из одного и того же клона в таблице 13.

[0012] В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит: VH-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:797; VH-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:798; VH-CDR3, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:799; VL-CDR1, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:800; VL-CDR2, содержащую последовательность, представленную в SEQ ID NO:801, и VL-CDR3,

обозначенным 25G9.

[0029] В некоторых вариантах осуществления антитело не ингибирует образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA), не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик Па) по сравнению с изотипическим контролем, не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем, не снижает потенциал эндогенного тромбина (ЕТР), как определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, обеспечивает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA), поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик Па) по сравнению с изотипическим контролем, поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем, сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ЕТР), как определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного с FX человека, не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.

[0030] В некоторых вариантах осуществления три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи определяют с использованием иллюстративной нумерации, нумерации Kabat, Chothia, AbM, Contact или IMGT.

[0031] В некоторых вариантах осуществления антитело специфически связывается с TF яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антитело специфически связывается с TF мыши. В некоторых вариантах осуществления антитело специфически связывается с TF кролика. В некоторых вариантах осуществления антитело специфически связывается с TF свиньи.

[0032] В некоторых вариантах осуществления заболевание включает воспаление сосудов. В некоторых вариантах осуществления заболевание включает местное воспаление. В некоторых вариантах осуществления заболевание включает системное воспаление.

[0033] В некоторых вариантах осуществления заболевание включает инфильтрацию мононуклеарными клетками и/или гранулоцитами. В некоторых вариантах осуществления мононуклеарные клетки включают макрофаги и/или лимфоциты. В некоторых вариантах осуществления гранулоциты включают нейтрофилы и/или эозинофилы.

[0034] В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание выбрано из группы, состоящей из: колита, воспалительного заболевания кишечника, артрита, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), респираторно-синцитиального вируса (РСВ), инфаркта миокарда и коронавируса тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2)

[0035] В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело

снижает общее количество лейкоцитов. В некоторых вариантах осуществления общее количество лейкоцитов определяют с помощью световой микроскопии.

[0036] В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело снижает общее количество гранулоцитов. В некоторых вариантах осуществления гранулоциты включают нейтрофилы. В некоторых вариантах осуществления гранулоциты включают эозинофилы. В некоторых вариантах осуществления общее количество гранулоцитов определяют с помощью иммуногистохимического (ИГХ) анализа или дифференциального подсчета клеток в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). В некоторых вариантах осуществления гранулоциты находятся в альвеолах. В некоторых вариантах осуществления гранулоциты находятся в интерстициальной жидкости.

[0037] В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело снижает общее количество мононуклеарных клеток. В некоторых вариантах осуществления мононуклеарные клетки включают макрофаги. В некоторых вариантах осуществления макрофаги включают макрофаги M1. В некоторых вариантах осуществления мононуклеарные клетки включают лимфоциты. В некоторых вариантах осуществления мононуклеарные клетки включают моноциты. В некоторых вариантах осуществления общее количество мононуклеарных клеток определяют с помощью иммуногистохимического (ИГХ) анализа или дифференциального подсчета клеток в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). В некоторых вариантах осуществления мононуклеарные клетки находятся в альвеолах. В некоторых вариантах осуществления мононуклеарные клетки находятся в интерстициальной жидкости.

[0038] В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту у субъекта сохраняется или увеличивается масса тела по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело поддерживает или увеличивает массу тела по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело уменьшает размер селезенки или устраняет спленомегалию по сравнению с исходными уровнями.

[0039] В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело уменьшает размер селезенки или устраняет спленомегалию по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления размер селезенки или спленомегалию определяют с помощью пальпации, перкуссии, ультразвукового исследования, компьютерной томографии (КТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ).

[0040] В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой острое повреждение легких или ОРДС. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело увеличивает чистый клиренс альвеолярной жидкости по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело увеличивает чистый клиренс альвеолярной жидкости по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим

средством. В некоторых вариантах осуществления чистый клиренс альвеолярной жидкости определяют путем последовательного измерения концентрации белка в отечной жидкости. В некоторых вариантах осуществления концентрации белка отечной жидкости последовательно измеряют с помощью твердофазного ИФА.

[0041] В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой SARS-Cov-2. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту у субъекта сохраняется или увеличивается масса тела по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело поддерживает или увеличивает массу тела по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

[0042] В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело снижает концентрацию воспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело снижает концентрацию воспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления воспалительные цитокины и хемокины находятся в образцах бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). В некоторых вариантах осуществления воспалительные цитокины и хемокины находятся в образцах гомогената легких. В некоторых вариантах осуществления воспалительные цитокины и хемокины включают одно или более из: IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN γ , GM-CSF, TNF α , CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL19, CCL20, CCL25, CXCL1, CXCL2 и CXCL10. В некоторых вариантах осуществления воспалительные цитокины и хемокины измеряют с помощью твердофазного ИФА или мультиплексного анализа Luminex. В некоторых вариантах осуществления воспалительные цитокины и хемокины включают VEGF. В некоторых вариантах осуществления воспалительные цитокины и хемокины включают одно или более из: GMCSF, VEGF, IL17F, IL-1-бета, IL-6, IFN γ , IL-8 и KC.

[0043] В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой вирусную инфекцию. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело повышает уровень противовоспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело повышает уровень противовоспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления противовоспалительные цитокины и хемокины включают одно или более из: IL-10 и IL27p28. В некоторых вариантах осуществления противовоспалительные цитокины и хемокины содержатся в образцах бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). В некоторых вариантах осуществления воспалительные цитокины и хемокины измеряют с помощью мультиплексного электрохемилуминесцентного анализа MSD. В некоторых вариантах осуществления воспалительные цитокины и хемокины измеряют с помощью мультиплексного анализа Luminex.

[0044] В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой РСВ. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело уменьшает фиброз в легких по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело уменьшает фиброз в легких по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления фиброз определяют с помощью ИГХ анализа или с помощью количественной компьютерной томографии высокого разрешения (qHRCT).

[0045] В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой артрит. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело снижает концентрацию воспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело снижает концентрацию воспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления воспалительные цитокины и хемокины включают одно или более из: IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN γ , GM-CSF, TNF α , CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL19, CCL20, CCL25, CXCL1, CXCL2 и CXCL10.

[0046] В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой колит или воспалительное заболевание кишечника. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело приводит к нормализации консистенции стула или делает консистенцию стула более твердой по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело приводит к нормализации консистенции стула или делает консистенцию стула более твердой по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления консистенцию стула определяют с использованием Бристольской шкалы формы стула. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело уменьшает количество крови или приводит к отсутствию крови в стуле субъекта по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело уменьшает количество крови или приводит к отсутствию крови в стуле субъекта по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления кровь в стуле субъекта измеряют с помощью гемоккульт-теста. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело снижает концентрацию воспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело снижает концентрацию воспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления воспалительные цитокины и хемокины включают одно или более из: IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN γ , GM-CSF, TNF α , CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL19, CCL20, CCL25, CXCL1, CXCL2 и CXCL10.

[0047] В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание

представляет собой инфаркт миокарда.

[0048] В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело уменьшает размер инфаркта по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело уменьшает размер инфаркта по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело увеличивает фракцию выброса левого желудочка по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело увеличивает фракцию выброса левого желудочка по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело уменьшает конечно-диастолический объем левого желудочка по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело уменьшает конечно-диастолический объем левого желудочка по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело снижает рекрутирование воспалительных клеток в инфарктный миокард по сравнению с исходными уровнями. В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело снижает рекрутирование воспалительных клеток в инфарктный миокард по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления воспалительные клетки выбраны из $CD45^+$, $CD11b^+$, $Ly6C^{hi}$, $CD45^+/CD90.2^-/NK1.1^-/CD11b^+$, $CD45^+/CD90.2^-/NK1.1^-/CD11b^+/Ly6C^{hi}$, и $CD45^+/CD90.2^-/NK1.1^-/CD11b^+/Ly6C^{lo}$. В некоторых вариантах осуществления рекрутирование воспалительных клеток измеряют с помощью проточной цитометрии.

[0049] В некоторых вариантах осуществления при введении субъекту антитело приводит к снижению потребности в системных стероидах. В некоторых вариантах осуществления различные противовоспалительные терапевтические средства включают одно или более из: нестероидного противовоспалительного средства (НПВП), стероидного противовоспалительного средства, бета-агониста, антихолинергического средства, антигистаминного средства и метилового ксантина. В некоторых вариантах осуществления различные противовоспалительные терапевтические средства включают любое из следующего: ингибитор IL-6, анти-GM-CSF, анти-TNF α , анти-IL-1 α , дексаметазон, хемокин и антагонист хемокинового рецептора и ингибитор JAK.

[0050] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения воспалительное заболевание лечат с помощью антитела или ADC, представленных в данном документе, которые связывают TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека. Также предполагается, что антитело или ADC, представленные в данном документе, которые не связываются с TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека, могут быть применимы для лечения воспалительных заболеваний. Например, такие антитела могут быть полезны для лечения

воспалительных заболеваний, которые характеризуются тромбозом.

[0051] В некоторых вариантах осуществления антитело вводят ежедневно. В некоторых вариантах осуществления антитело вводят еженедельно. В некоторых вариантах осуществления антитело вводят раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления антитело вводят ежемесячно.

Краткое описание графических материалов

[0052] Эти и другие особенности, аспекты и преимущества данного изобретения станут более понятными с учетом следующего описания и прилагаемых графических материалов, на которых:

[0053] **На Фиг. 1** приведена таблица, демонстрирующая некоторые общие характеристики острого повреждения легких (ОПЛ) и острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) у людей.

[0054] **На Фиг. 2** представлена схема, показывающая качественную систему, используемую для оценки физического состояния в баллах. (См. Примеры).

[0055] **На Фиг. 3** представлен график, демонстрирующий изменение массы тела в процентах у мышей, получавших указанное лечение в исследовании модели индуцированного DSS колита.

[0056] **На Фиг. 4** представлен график, демонстрирующий баллы по индексу активности болезни у мышей, получавших указанное лечение в исследовании модели индуцированного DSS колита.

[0057] **На Фиг. 5** представлен график, демонстрирующий баллы по оценке физического состояния в ходе исследования у мышей, получавших указанное лечение в исследовании модели индуцированного DSS колита.

[0058] **На Фиг. 6** представлен график, демонстрирующий среднюю массу мышей в конце исследования после получения указанного лечения в исследовании модели индуцированного DSS колита.

[0059] **На Фиг. 7** представлен график, демонстрирующий изменение массы тела в процентах относительно исходных уровней у мышей, получавших указанное лечение в исследовании модели ОПЛ.

[0060] **На Фиг. 8А** представлены графики, демонстрирующие общее количество лейкоцитов, общее количество макрофагов и общее количество лимфоцитов в образцах жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) у мышей в конце исследования после получения указанного лечения в исследовании модели ОПЛ. **На Фиг. 8В** представлены графики, демонстрирующие общее количество нейтрофилов и общее количество эозинофилов в образцах жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) у мышей в конце исследования после получения указанного лечения в исследовании модели ОПЛ.

[0061] **На Фиг. 9** представлен график, демонстрирующий результаты гистопатологической качественной оценки для сравнения нейтрофильной инфильтрации в интерстиций, альвеолы и бронхиолы и инфильтрации мононуклеарных клеток в периваскулярную и перибронхиальную ткани у мышей, которые получали указанное

лечение в исследовании модели ОПЛ.

[0062] **На Фиг. 10А и Фиг. 10В** представлены графики, демонстрирующие средние концентрации воспалительных цитокинов и хемокинов ($\pm$ СОС), измеренные в ЖБАЛ у мышей, получивших указанное лечение в исследовании модели ОПЛ.

[0063] **На Фиг. 11** представлен график, демонстрирующий среднее количество отдельных видов лейкоцитов для БАЛ (общее количество лейкоцитов), измеренное у мышей, которые получали указанное лечение в исследовании модели респираторно-синцитиального вируса (РСВ).

[0064] **На Фиг. 12** представлены графики, демонстрирующие лейкоцитарную формулу для БАЛ для макрофагов, нейтрофилов и лимфоцитов у мышей, которые получали указанное лечение в исследовании модели респираторно-синцитиального вируса (РСВ).

[0065] **На Фиг. 13** представлена схема, демонстрирующая график исследований для модели индуцированного DSS колита.

[0066] **На Фиг. 14** представлен график, демонстрирующий изменение массы в процентах у мышей с индукцией DSS, которые получали указанное лечение.

[0067] **На Фиг. 15** представлен график, демонстрирующий влияние указанных видов лечения на баллы по индексу активности болезни (DAI) в модели DSS.

[0068] **На Фиг. 16** представлен график, демонстрирующий влияние указанных видов лечения на плотность толстой кишки (т.е. массу толстой кишки/длину толстой кишки) в модели DSS.

[0069] **На Фиг. 17** представлен график, демонстрирующий влияние указанных видов лечения на массу селезенки в модели DSS.

[0070] **На Фиг. 18А** представлены графики, демонстрирующие влияние указанных видов лечения на уровни воспалительных цитокинов в модели поли I:C.

[0071] **На Фиг. 18В** представлены графики, демонстрирующие влияние указанных видов лечения на уровни противовоспалительных цитокинов в модели поли I:C.

[0072] **На Фиг. 19** представлен график, демонстрирующий влияние указанных видов лечения на массу тела в модели поли I:C.

[0073] **На Фиг. 20** представлены эхокардиограммы, демонстрирующие влияние лечения антителом к TF и изотипическим контролем на размер инфаркта в модели инфаркта миокарда.

[0074] **На Фиг. 21** представлены графики, демонстрирующие влияние лечения антителом к TF и изотипическим контролем на фракцию выброса левого желудочка и конечно-диастолический объем левого желудочка в модели инфаркта миокарда.

[0075] **На Фиг. 22 и Фиг. 23** изотипическим графиками, демонстрирующими снижение рекрутирования воспалительных клеток при лечении антителом к TF в модели инфаркта миокарда.

Подробное описание

1. Определения

[0076] Если не указано иное, все термины, обозначения и другая научная терминология, используемые в данном документе, предназначены для того, чтобы иметь значения, обычно понятные специалистам в данной области техники. В некоторых случаях термины с общепринятыми значениями определены в данном документе для ясности и/или для удобства упоминания, и включение таких определений в данный документ не обязательно должно толковаться как представляющее отличие от того, что обычно понимается в данной области техники. Способы и процедуры, описанные или на которые в настоящем документе делается ссылка, как правило, являются хорошо понятными и обычно используются специалистами в данной области техники с использованием широкопринятых методологий, таких как, например, широко используемые методологии молекулярного клонирования, описанные в Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 4th ed. (2012) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. В зависимости от конкретного случая процедуры, включающие использование имеющихся в продаже наборов и реагентов в целом проводятся в соответствии с протоколами и/или состояниями, определенными производителем, если не указано иное.

[0077] В контексте данного документа формы единственного числа включают ссылки на формы множественного числа, если из контекста явно следует иное. Термины «включать», «такой как» и т.п. предназначены для обозначения включения без ограничения, если специально не указано иное.

[0078] Используемый в данном документе термин «содержащий» также конкретно включает варианты осуществления «состоящий из» и «состоящий по существу из» перечисленных элементов, если специально не указано иное.

[0079] Термин «около» указывает и охватывает указанное значение и диапазон выше и ниже этого значения. В определенных вариантах осуществления термин «около» означает указанное значение $\pm 10\%$, $\pm 5\%$ или $\pm 1\%$. В определенных вариантах осуществления, где это применимо, термин «около» указывает обозначенное значение (значения) $\pm$ одно стандартное отклонение этого значения (значений).

[0080] Термины «тканевый фактор», «ТФ», «тканевый тромбопластин», «фактор III», «тромбопластин» и «CD142» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения ТФ или любых вариантов (например, вариантов сплайсинга и аллельных вариантов), изоформ и видовых гомологов ТФ, которые естественным образом экспрессируются клетками или которые экспрессируются клетками, трансфицированными геном ТФ. В некоторых аспектах белок TF представляет собой белок TF, который в естественных условиях экспрессируется приматом (например, обезьяной или человеком), грызуном (например, мышью или крысой), собакой, верблюдом, кошкой, коровой, козой, лошастью, свиньей или овцой. В некоторых аспектах белок TF представляет собой TF человека (hTF; SEQ ID NO:809). В некоторых аспектах белок TF представляет собой TF яванского макака (cTF; SEQ ID NO:813). В некоторых аспектах белок TF представляет собой TF мыши (mTF; SEQ ID NO:817). В некоторых аспектах белок TF представляет

собой TF свиньи (pTF; SEQ ID NO:824). TF представляет собой рецептор клеточной поверхности фактора сериновой протеазы VIIa. Часто он конститутивно экспрессируется определенными клетками, окружающими кровеносные сосуды, и при некоторых заболеваниях.

[0081] Термин «конъюгат антитело-лекарственное средство» или «ADC» относится к конъюгату, содержащему антитело, конъюгированное с одним или более цитотоксическими агентами, необязательно через один или более линкеров. Термин «конъюгат антитело-лекарственное средство к TF» или «ADC к TF» относится к конъюгату, содержащему антитело к TF, конъюгированное с одним или более цитотоксическими агентами, необязательно через один или более линкеров.

[0082] Термин «цитотоксический агент» в контексте данного описания относится к веществу, которое ингибирует или предотвращает клеточную функцию и/или вызывает гибель или разрушение клеток. Цитотоксический агент может включать антиангиогенный агент, проапоптотический агент, антимитотический агент, антикиназный агент, алкилирующий агент, гормон, агонист гормона, антагонист гормона, хемокин, лекарственное средство, пролекарство, токсин, фермент, антиметаболит, антибиотик, алкалоид или радиоактивный изотоп. Иллюстративные цитотоксические агенты включают, по меньшей мере, одно из: калихеамицина, камптотецина, карбоплатина, иринотекана, SN-38, карбоплатина, камптотекана, циклофосфамида, цитарабина, дакарбазина, доцетаксела, дактиномицина, даунорубицина, доксорубицина, доксорубицина, этопозида, идарубицина, топотекана, алкалоида барвинка, майтансиноида, аналога майтансиноида, пирролобензодиазепина, таксоида, дуокармицина, доластатина, ауристатина и их производных.

[0083] «Линкер» относится к молекуле, которая связывает одну композицию с другой, например, антитело с агентом. Описанные в данном документе линкеры могут конъюгировать антитело с цитотоксическим агентом. Иллюстративные линкеры включают лабильный линкер, кислотолабильный линкер, фотолабильный линкер, заряженный линкер, дисульфидсодержащий линкер, чувствительный к пептидазе линкер, β -глюкуронидный линкер, диметильный линкер, тиоэфирный линкер и гидрофильный линкер. Линкер может быть расщепляемым или нерасщепляемым.

[0084] Термин «иммуноглобулин» относится к классу структурно родственных белков, обычно содержащих две пары полипептидных цепей: одну пару легких (L) цепей и одну пару тяжелых (H) цепей. В «интактном иммуноглобулине» все четыре цепи связаны дисульфидными связями. Структура иммуноглобулинов хорошо изучена. См., например, Paul, *Fundamental Immunology* 7th ed., Ch. 5 (2013) Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. Вкратце, каждая тяжелая цепь как правило содержит переменную область тяжелой цепи (V_H) и константную область тяжелой цепи (C_H). Константная область тяжелой цепи как правило содержит три домена, называемые C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Каждая легкая цепь как правило содержит переменную область легкой цепи (V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи как правило

содержит один домен, называемый C_L.

[0085] Термин «антитело» используется в данном документе в самом широком смысле и включает определенные типы молекул иммуноглобулинов, содержащих один или более антигенсвязывающих доменов, которые специфически связываются с антигеном или эпитопом. Антитело, в частности, включает интактные антитела (например, интактные иммуноглобулины), фрагменты антител и мультиспецифичные антитела.

[0086] Термин «альтернативный каркас» относится к молекуле, в которой одна или более областей могут быть диверсифицированы для получения одного или более антигенсвязывающих доменов, которые специфически связываются с антигеном или эпитопом. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен связывает антиген или эпитоп со специфичностью и аффинностью, аналогичными таковым у антитела. Примеры альтернативных каркасов включают каркасы, полученные из фибронектина (например, аднектиныTM), β-сэндвичи (например, iMab), липокалин (например, антикалины[®]), EETI-II/AGRP, BPTI/LACI-D1/LTI-D2 (например, домены Kunitz), тиоредоксиновые пептидные аптамеры, белок А (например, аффитела[®]), анкириновые повторы (например, DARPiны), гамма-В-кристаллин/убиквитин (например, аффилины), CTLD3 (например, тетранектины), финомеры и (модуль LDLR-A) (например, авимеры). Дополнительная информация об альтернативных каркасах представлена в Binz et al., Nat. Biotechnol., 2005 23:1257-1268; Skerra, Current Opin. in Biotech., 2007 18:295-304; и Silacci et al., J. Biol. Chem., 2014, 289:14392-14398; каждая из которых включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

[0087] Термин «антигенсвязывающий домен» означает часть антитела, которая способна специфически связываться с антигеном или эпитопом. Одним из примеров антигенсвязывающего домена представляет собой антигенсвязывающий домен, образованный димером V_H-V_L антитела. Другим примером антигенсвязывающего домена является антигенсвязывающий домен, образованный диверсификацией определенных петель из десятого домена фибронектина типа III аднектина. Антигенсвязывающие домены можно найти в различных источниках, включая антитела и химерные антигенные рецепторы (CAR), например CAR, полученные из антител или фрагментов антител, таких как scFv.

[0088] Термины «полноразмерное антитело», «интактное антитело» и «целое антитело» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения антитела, имеющего структуру, по существу аналогичную структуре природного антитела, и имеющего тяжелые цепи, которые содержат область Fc. Например, «полноразмерное антитело», когда используется для обозначения молекулы IgG, представляет собой антитело, которое содержит две тяжелые цепи и две легкие цепи.

[0089] Термин «область Fc» означает С-концевую область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая в природных антителах взаимодействует с рецепторами Fc и некоторыми белками системы комплемента. Структуры Fc-областей различных

иммуноглобулинов и содержащиеся в них сайты гликозилирования известны в данной области техники. См. Schroeder and Cavacini, J. Allergy Clin. Immunol., 2010, 125:S41-52, полностью включена в данный документ в качестве ссылки. Fc-область может быть природной Fc-областью или Fc-областью, модифицированной, как описано в уровне техники или где-либо еще в данном изобретении.

[0090] Области V_H и V_L могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности («гипервариабельные области (HVR)»; также называемые «определяющие комплементарность области» (CDR)), чередующиеся с областями, которые более консервативны. Более консервативные области называются каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L обычно содержит три CDR и четыре FR, расположенных в следующем порядке (от N-конца до C-конца): FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4. CDR участвуют в связывании антигена и влияют на специфичность антигена и аффинность связывания антитела. См, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed. (1991) Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, включенную в данный документ в полном объеме.

[0091] «Определяющая комплементарность область (CDR)» относится к одной из трех гипервариабельных областей (H1, H2 или H3) в пределах некаркасной области β -складчатого каркаса V_H иммуноглобулина (Ig или антитела) или одной из трех гипервариабельных областей (L1, L2 или L3) в пределах некаркасной области β -складчатого каркаса V_L антитела. CDR представляют собой последовательности вариабельной области, перемежающиеся последовательностями каркасной области. CDR хорошо известны в данной области техники и были определены, например, Kabat, как области наибольшей гипервариабельности в пределах вариабельных (V) доменов антитела. См., Kabat et al., J Biol Chem, 1977, 252:6609-6616 и Kabat, Adv Protein Chem, 1978, 32:1-75, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. CDR также были структурно определены Chothia как те остатки, которые не являются частью консервативного β -складчатого каркаса и, таким образом, способны принимать разные конформации. См., Chothia and Lesk, J Mol Biol, 1987, 196:901-917, включенный в полном объеме посредством ссылки. Обе номенклатуры Kabat и Chothia хорошо известны в данной области техники. С помощью AbM, Contact и IMGT также определяют CDR. Позиции CDR в пределах вариабельного домена канонического антитела были определены путем сравнения многочисленных структур. См. Morea et al., Methods, 2000, 20:267-279 и Al-Lazikani et al., J Mol Biol, 1997, 273:927-48, каждая из которых полностью включена в данный документ посредством ссылки. Поскольку число остатков в пределах гипервариабельной области варьируется для разных антител, дополнительные остатки относительно канонических позиций традиционно нумеруют, приписывая a, b, c и так далее рядом с номером остатка в канонической схеме нумерации вариабельного домена (Al-Lazikani et al., выше). Такая терминология хорошо известна специалистам в данной области техники.

[0092] Применяют большое число вариантов разграничения гипервариабельной

области, которые включены в данный документ. CDR по Kabat основаны на варибельности последовательностей и являются наиболее часто используемыми. См. Kabat et al. (1992) Sequences of Proteins of Immunological Interest, DIANE Publishing: 2719, полностью включенную в данный документ посредством ссылки. Chothia, вместо этого, относится к расположению структурных петель (Chothia and Lesk, supra). Гиперварибельные области по AbM представляют собой компромиссный вариант между CDR по Кабату, и структурными петлями по Чотиа, и используются в программном обеспечении для моделирования антител Oxford Molecular's AbM. «Контактные» гиперварибельные области основаны на анализе доступных комплексных кристаллических структур. Остатки от каждого из этих гиперварибельных участков отмечены в **Таблице 1**.

[0093] Совсем недавно была разработана и получила широкое распространение универсальная система нумерации ImMunoGeneTics (IMGT) Information SystemTM. См., Lefranc et al., Dev Comp Immunol, 2003, 27:55-77, включенную посредством ссылки в полном объеме. IMGT представляет собой интегрированную информационную систему, специализирующуюся на иммуноглобулинах (IG), Т-клеточных рецепторах (TR) и главном комплексе гистосовместимости (ГКГС) человека и других позвоночных. CDR IMGT указаны в терминах как аминокислотной последовательности, так и расположения в легкой или тяжелой цепи. Так как «расположение» CDR в структуре варибельного домена иммуноглобулина является консервативным среди разных видов и представлено в структурах, называемых петлями, с помощью систем нумерации, которые выравнивают последовательности варибельного домена в соответствии со структурными характеристиками, остатки CDR и каркасной области легко определимы. Соответствие между нумерацией Kabat, Chothia и IMGT также хорошо известно в данной области техники (Lefranc et al., выше). Иллюстративная система, представленная в данном документе, объединяет определения CDR по Kabat и Chothia.

Таблица 1

	Иллюстративный (Kabat+Chothia)	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
CDR1 VH	26-35	31-35	26-32	26-35	30-35	27-38
CDR2 VH	50-65	50-65	52a-55	50-58	47-58	56-65
CDR3 VH	95-102	95-102	96-101	95-102	93-101	105-117
CDR1 VL	24-34	24-34	26-32	24-34	30-36	27-38
CDR2 VL	50-56	50-56	50-52	50-56	46-55	56-65
CDR3 VL	89-97	89-97	91-96	89-97	89-96	105-117

[0094] Легкая цепь любого вида позвоночных может быть отнесена к одному из двух типов, называемых каппа (κ) и лямбда (λ), на основе последовательности ее константного домена.

[0095] Тяжелая цепь любого вида позвоночных может быть отнесена к одному из пяти различных классов (или изотипов): IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. Эти классы также обозначаются как α , δ , ϵ , γ и соответственно. Классы IgG и IgA далее делятся на подклассы на основе различий в последовательности и функции. Люди выражают следующие подклассы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2.

[0096] Термины «константная область» или «константный домен» относятся к карбокси-концевой части легкой и тяжелой цепи, которая непосредственно не принимает участие в связывании антитела с антигеном, но проявляет различные эффекторные функции, такие как взаимодействие с Fc-рецептором. Эти термины относятся к части молекулы иммуноглобулина, имеющей более консервативную аминокислотную последовательность по сравнению с другой частью иммуноглобулина, варибельным доменом, который содержит антигенсвязывающий сайт. Константная область содержит домены C_{H1}, C_{H2} и C_{H3} тяжелой цепи и домен C_L легкой цепи.

[0097] «Схема нумерации EU» обычно используется для обозначения остатка в константной области тяжелой цепи антитела (*например*, как сообщается в Kabat et al., выше). Если не указано иное, схема нумерации EU используется для обозначения остатков в константных областях тяжелой цепи антитела, описанных в данном документе.

[0098] «Фрагмент антител» содержит часть интактного антитела, такую как антигенсвязывающая или варибельная область интактного антитела. Фрагменты антител включают, например, фрагменты F_v, фрагменты Fab, фрагменты F(ab')₂, фрагменты Fab', фрагменты scFv (sFv) и фрагменты scFv-Fc.

[0099] Фрагменты «F_v» содержат нековалентно связанный димер одного варибельного домена тяжелой цепи и одного варибельного домена легкой цепи.

[00100] Фрагменты «Fab» содержат, помимо варибельных доменов тяжелой и легкой цепи, константный домен легкой цепи и первый константный домен (C_{H1}) тяжелой цепи. Фрагменты Fab можно получить, например, рекомбинантными методами или ферментативным расщеплением папаином полноразмерного антитела.

[00101] Фрагменты «F(ab')₂» содержат два фрагмента Fab, соединенных около шарнирной области дисульфидными связями. Фрагменты F(ab')₂ можно получить, например, рекомбинантными методами или ферментативным расщеплением пепсином интактного антитела. Фрагменты F(ab') можно диссоциировать, например, обработкой β-меркаптоэтанолом.

[00102] «Одноцепочечные F_v», или «sFv», или «scFv» фрагменты антитела содержат домен V_H и домен V_L в одной полипептидной цепи. V_H и V_L обычно связаны пептидным линкером. См., Plückthun A. (1994). Может быть использован любой подходящий линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой (GGGGS)_n (SEQ ID NO:823). В некоторых вариантах осуществления n=1, 2, 3, 4, 5 или 6. См. антитела от Escherichia coli. В Rosenberg M. & Moore G.P. (Eds.), The Pharmacology of Monoclonal Antibodies vol. 113 (pp. 269-315). Springer-Verlag, New York, включенную посредством ссылки в полном объеме.

[00103] Фрагменты «scFv-Fc» содержат scFv, присоединенный к домену Fc. Например, домен Fc может быть присоединен к С-концу scFv. Домен Fc может следовать за V_H или V_L , в зависимости от ориентации вариабельных доменов в scFv (т.е., V_H - V_L и V_L - V_H). Может быть использован любой подходящий домен Fc, известный в данной области техники или описанный в данном документе.

[00104] Термин «однодоменное антитело» относится к молекуле, в которой один вариабельный домен антитела специфически связывается с антигеном без присутствия другого вариабельного домена. Однодоменные антитела и их фрагменты описаны в Arabi Ghahroudi et al., FEBS Letters, 1998, 414:521-526 и Muyldermans et al., Trends in Biochem. Sci., 2001, 26:230-245, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Однодоменные антитела также известны как sdAbs или нанотела.

[00105] «Мультиспецифичное антитело» представляет собой антитело, которое содержит два или более разных антигенсвязывающих домена, которые вместе специфически связывают два или более разных эпитопов. Два или более разных эпитопа могут быть эпитопами одного и того же антигена (например, одна молекула TF, экспрессируемая клеткой) или на разных антигенах (например, молекула TF и молекула, отличная от TF). В некоторых аспектах мультиспецифичное антитело связывает два разных эпитопа (т.е., «биспецифичное антитело»). В некоторых аспектах мультиспецифичное антитело связывает три разных эпитопа (т.е., «триспецифичное антитело»). В некоторых аспектах мультиспецифичное антитело связывает четыре разных эпитопа (т.е., «четырёхспецифичное антитело»). В некоторых аспектах мультиспецифичное антитело связывает пять разных эпитопа (т.е., «пятиспецифичное антитело»). В некоторых аспектах мультиспецифичное антитело связывает 6, 7, 8 или более различных эпитопов. Каждая специфичность связывания может иметь любую подходящую валентность. Примеры мультиспецифичных антител представлены в другом месте в данном изобретении.

[00106] «Моноспецифичное антитело» представляет собой антитело, которое содержит один или более сайтов связывания, которые специфически связываются с одним эпитопом. Примером моноспецифичного антитела является встречающаяся в природе молекула IgG, которая, будучи двухвалентной (т.е., имеющей два антигенсвязывающих домена), распознает один и тот же эпитоп в каждом из двух антигенсвязывающих доменов. Специфичность связывания может иметь любую подходящую валентность.

[00107] Термин «моноклональное антитело» относится к антителу из популяции по существу гомогенных антител. Популяция по существу гомогенных антител включает антитела, которые по существу сходны и связывают один и тот же эпитоп(-ы), за исключением вариантов, которые обычно могут возникать во время продукции моноклонального антитела. Такие варианты, как правило, присутствуют только в незначительных количествах. Моноклональное антитело, как правило, получают с помощью процесса, который включает выбор одного антитела из множества антител. Например, процесс отбора может представлять собой отбор уникального клона из

множества клонов, таких как пул гибридных клонов, фаговых клонов, дрожжевых клонов, бактериальных клонов или других клонов рекомбинантной ДНК. Выбранное антитело можно дополнительно изменить, например, для улучшения аффинности к мишени («созревание аффинности»), для гуманизации антитела, для улучшения его продукции в культуре клеток и/или для снижения его иммуногенности у субъекта.

[00108] Термин «химерное антитело» относится к антителу, в котором фрагмент тяжелой и/или легкой цепи получен из конкретного источника или вида, в то время как часть тяжелой и/или легкой цепи получены из другого источника или вида.

[00109] «Гуманизированные» формы не относящихся к человеку видов антител представляют собой химерные антитела, которые содержат минимальную последовательность, полученную из иммуноглобулина, не принадлежащего к человеческому роду. Гуманизированное антитело обычно представляет собой антитело человека (реципиентное антитело), в котором остатки из одной или более CDR заменены остатками из одной или более CDR нечеловеческого антитела (донорское антитело). Донорским антителом может быть любое подходящее нечеловеческое антитело, такое как мышинное, крысиное, кроличье, куриное или нечеловеческое антитело приматов, имеющее желаемую специфичность, аффинность или биологический эффект. В некоторых случаях выбранные остатки каркасной области антитела-реципиента заменяются соответствующими остатками каркасной области донорного антитела. Гуманизированные антитела могут также содержать остатки, которых нет ни в антителе реципиента, ни в антителе донора. Такие модификации могут быть сделаны для дальнейшего уточнения функции антитела. Для получения дополнительных сведений см. Jones et al., *Nature*, 1986, 321:522-525; Riechmann et al., *Nature*, 1988, 332:323-329; и Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 1992, 2:593-596, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

[00110] «Антитело человека» представляет собой антитело, которое обладает аминокислотной последовательностью, соответствующей аминокислотной последовательности антитела, продуцируемого человеком или клеткой человека, или полученного из нечеловеческого источника, который использует репертуар человеческих антител или последовательности, кодирующие антитела человека (например, получены из человеческих источников или созданы *de novo*). Антитела человека конкретно исключают гуманизированные антитела.

[00111] «Выделенное антитело» или «выделенная нуклеиновая кислота» представляет собой антитело или нуклеиновую кислоту, которые были выделены и/или восстановлены из компонента его естественного окружения. Компоненты природной среды могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые материалы. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело очищают до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности, например, с использованием секвенатора с вращающимся стаканом. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело очищают до гомогенности с помощью гель-электрофореза (например, SDS-PAGE) в

восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с обнаружением с помощью окрашивания кумасси синим или серебром. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело может включать антитело *in situ* в рекомбинантных клетках, поскольку по меньшей мере один компонент естественной среды антитела будет отсутствовать. В некоторых аспектах выделенное антитело или выделенную нуклеиновую кислоту получают, по меньшей мере, с помощью одной стадии очистки. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или выделенную нуклеиновую кислоту очищают по меньшей мере до 80%, 85%, 90%, 95% или 99% по массе. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или выделенную нуклеиновую кислоту очищают по меньшей мере до 80%, 85%, 90%, 95% или 99% по объему. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или выделенная нуклеиновая кислота предоставляется в виде раствора, содержащего от по меньшей мере 85%, 90%, 95%, 98%, 99% до 100% антитела или нуклеиновой кислоты по массе. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или выделенная нуклеиновая кислота предоставляется в виде раствора, содержащего от по меньшей мере 85%, 90%, 95%, 98%, 99% до 100% антитела или нуклеиновой кислоты по объему.

[00112] «Аффинность» относится к силе суммарного количества нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, антителом) и ее связывающим партнером (например, антигеном или эпитопом). Если не указано иное, в контексте данного документа «аффинность» относится к действительной аффинности связывания, которая отражает взаимодействие в соотношении 1:1 между членами связывающей пары (например, антителом и антигеном или эпитопом). Аффинность молекулы X в отношении ее партнера Y может быть представлена константой диссоциации (K_D). Кинетические компоненты, которые вносят вклад в константу равновесия диссоциации, более подробно описаны ниже. Аффинность можно измерить обычными методами, известными в данной области техники, в том числе описанными в данном документе, такими как технология поверхностного плазмонного резонанса (SPR) (например, BIACORE®) или биослойная интерферометрия (например, FORTEBIO®).

[00113] Что касается связывания антитела с молекулой-мишенью, термины «связывает», «специфическое связывание», «специфично связывается с», «специфично для», «избирательно связывается» и «селективно в отношении» конкретного антигена (например, полипептида-мишени) или эпитопа на конкретном антигене означает связывание, которое заметно отличается от неспецифического или неселективного взаимодействия (например, с молекулой, не являющейся мишенью). Специфическое связывание можно измерить, например, путем измерения связывания с молекулой-мишенью и сравнения его со связыванием с молекулой, отличной от мишени. Специфическое связывание также может быть определено путем конкуренции с контрольной молекулой, которая имитирует эпитоп, распознаваемый на молекуле-мишени. В этом случае специфическое связывание указывается, если связывание антитела с молекулой-мишенью конкурентно ингибируется контрольной молекулой. В некоторых

аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 50% от аффинности к ТФ. В некоторых аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 40% от аффинности к ТФ. В некоторых аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 30% от аффинности к ТФ. В некоторых аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 20% от аффинности к ТФ. В некоторых аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 10% от аффинности к ТФ. В некоторых аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 1% от аффинности к ТФ. В некоторых аспектах аффинность антитела к ТФ к молекуле, не являющейся мишенью, составляет менее около 0,1% от аффинности к ТФ.

[00114] В некоторых вариантах осуществления специфическое связывание относится к связыванию антитела с аффинностью менее 1 нМ. В некоторых вариантах осуществления специфическое связывание относится к связыванию антитела с аффинностью менее 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления специфическое связывание относится к связыванию антитела с аффинностью менее 50 нМ. В некоторых вариантах осуществления специфическое связывание относится к связыванию антитела с аффинностью менее 100 нМ. В некоторых вариантах осуществления специфическое связывание относится к связыванию антитела с аффинностью менее 200 нМ. В некоторых вариантах осуществления специфическое связывание относится к связыванию антитела с аффинностью менее 300 нМ. В некоторых вариантах осуществления специфическое связывание относится к связыванию антитела с аффинностью менее 200 нМ, 300 нМ, 400 нМ или 500 нМ. В некоторых вариантах осуществления специфическое связывание относится к связыванию антитела с аффинностью менее 0 нМ, 10 нМ, 20 нМ, 30 нМ, 40 нМ, 50 нМ, 60 нМ, 70 нМ, 80 нМ, 90 нМ, или 100 нМ.

[00115] Термин « k_d » (сек^{-1}), используемый в данном документе, относится к константе скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Это значение также называют значение k_{off} .

[00116] Термин « k_a » ($\text{M}^{-1} \times \text{сек}^{-1}$), используемый в данном документе, относится к константе скорости ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Это значение также называют значение k_{on} .

[00117] Термин « K_D » (M), используемый в данном документе, относится к константе равновесия диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. $K_D = k_d/k_a$. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела описывается в терминах K_D для взаимодействия между таким антителом и его антигеном. Для ясности, как известно в данной области техники, меньшее значение K_D указывает на более высокое аффинное взаимодействие, тогда как большее значение K_D указывает на более низкое аффинное взаимодействие.

[00118] В контексте данного документа термин « K_A » (M^{-1}) относится к константе равновесия ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. $K_A = k_a/k_d$.

[00119] Антитело с «созревшей аффинностью» представляет собой антитело с одним или более изменениями (например, в одной или более CDR или FR) относительно родительского антитела (т.е. антитела, из которого происходит или сконструировано измененное антитело), которые приводят к улучшению в аффинности антитела к его антигену по сравнению с исходным антителом, которое не имеет изменений. В некоторых вариантах осуществления антитело с созревшей аффинностью обладает наномолярной или пикомолярной аффинностью к антигену-мишени. Антитела с созревшей аффинностью могут быть получены с использованием множества способов, известных в данной области техники. Например, Marks et al. (Bio/Technology, 1992, 10:779-783, полностью включена в качестве ссылки) описывает созревание аффинности путем перетасовки доменов V_H и V_L . Случайный мутагенез CDR и/или каркасных остатков описан, например, Barbas et al., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 1994, 91:3809-3813; Schier et al., Gene, 1995, 169:147-155; Yelton et al., J. Immunol., 1995, 155:1994-2004; Jackson et al., J. Immunol., 1995, 154:3310-33199; и Hawkins et al, J. Mol. Biol., 1992, 226:889-896; каждая из которых полностью включена в данный документ посредством ссылки.

[00120] «Эффекторные функции Fc» относятся к тем биологическим активностям, опосредованным Fc-областью антитела, которые могут варьировать в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают связывание C1q для активации комплементзависимой цитотоксичности (КЗЦ), связывание с рецептором Fc для активации антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) и антителозависимый клеточный фагоцитоз (АЗКФ).

[00121] При использовании в данном документе в контексте двух или более антител термин «конкурирует с» или «перекрестно конкурирует с» указывает на то, что два или более антитела конкурируют за связывание с антигеном (например, TF). В одном из примеров анализа TF наносят на поверхность и приводят в контакт с первым антителом к TF, после чего добавляют второе антитело к TF. В другом типичном анализе сначала на поверхность наносят антитело у TF и вводят в контакт с TF, а затем добавляют второе антитело к TF. Если присутствие первого антитела к TF снижает связывание второго антитела к TF в любом анализе, тогда антитела конкурируют друг с другом. Термин «конкурирует с» также включает комбинации антител, в которых одно антитело снижает связывание другого антитела, но при этом не наблюдается конкуренции, когда антитела добавляются в обратном порядке. Однако в некоторых вариантах осуществления первое и второе антитела ингибируют связывание друг друга независимо от порядка, в котором они добавлены. В некоторых вариантах осуществления одно антитело снижает связывание другого антитела с его антигеном по меньшей мере на 25%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, или по меньшей мере 95%. Квалифицированный специалист может выбрать концентрации антител, используемых в конкурентных анализах, на основании аффинности антител к TF и валентности антител. Анализы, описанные в этом определении, являются иллюстративными, и квалифицированный специалист может

использовать любой подходящий анализ для определения того, конкурируют ли антитела друг с другом. Подходящие анализы описаны, например, в Cox et al., “Immunoassay Methods,” in Assay Guidance Manual [Internet], Updated December 24, 2014 (www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92434/; по состоянию на сентябрь 29, 2015); Silman et al., Cytometry, 2001, 44:30-37; и Finco et al., J. Pharm. Biomed. Anal., 2011, 54:351-358, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Как показано в **Примере 8**, антитела группы 25 и антитела группы 43 конкурируют друг с другом за связывание с TF человека, в то время как антитела из групп 1, 29, 39 и 54 не конкурируют за связывание с TF человека с антителами групп 25 и 43.

[00122] В данном контексте считается, что антитело, которое специфически связывается с антигеном человека, связывается с тем же антигеном мышиноного происхождения, когда значение K_D можно измерить на ForteBio Octet с антигеном мыши. Антитело, которое специфически связывается с антигеном человека, считается «перекрестно-реактивным» с тем же антигеном мышиноного происхождения, если значение K_D для антигена мыши не более чем в 20 раз превышает соответствующее значение K_D для соответствующего антигена человека. Например, антитело M1593, описанное в патенте США № № 8722044, 8951525 и 8999333, каждый из которых включен в настоящее описание в качестве ссылки для всех целей, гуманизированное антитело 5G9, описанное в Ngo et al., 2007, Int J Cancer, 120(6):1261-1267, включенной в данный документ в качестве ссылки во всей своей полноте, и химерное антитело ALT-836, описанное в Hong et al, 2012, J Nucl Med, 53(11):1748-1754, включенной в данный документ в качестве ссылки во всей своей полноте, не связывается с TF мыши. Как показано в **примерах 1 и 6**, антитела к TF из групп 25 и 43 связываются с TF мыши, например, антитела к TF 25G, 25G1, 25G9 и 43D8 обладают перекрестной реактивностью с TF мыши.

[00123] Используемое в данном документе антитело, которое специфически связывается с антигеном человека, считается «перекрестно-реактивным» с тем же антигеном от яванского макака, если значение K_D для антигена яванского макака не более чем в 15 раз превышает соответствующее значение K_D для соответствующего антигена человека. Как показано в **Примере 1**, все протестированные антитела из групп 1, 25, 29, 39, 43 и 54 обладают перекрестной реактивностью с TF яванского макака.

[00124] Термин «эпитоп» означает часть антигена, которая специфически связывается с антителом. Эпитопы часто содержат доступные на поверхности аминокислотные остатки и/или боковые цепи сахаров и могут иметь специфические трехмерные структурные характеристики, а также специфические характеристики заряда. Конформационные и неконформационные эпитопы различаются тем, что связывание с первым, но не со вторым, может быть потеряно в присутствии денатурирующих растворителей. Эпитоп может содержать аминокислотные остатки, которые непосредственно участвуют в связывании, и другие аминокислотные остатки, которые непосредственно не участвуют в связывании. Эпитоп, с которым связывается антитело,

может быть определен с использованием известных методов определения эпитопа, таких как, например, тестирование связывания антитела с вариантами TF с различными точечными мутациями или с химерными вариантами TF.

[00125] Процент «идентичности» между полипептидной последовательностью и эталонной последовательностью определяется как процент аминокислотных остатков в полипептидной последовательности, идентичных аминокислотным остаткам в эталонной последовательности после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если необходимо, для достижения максимальной процентной идентичности последовательности. Выравнивание в целях определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть осуществлено различными способами, находящимися в компетенции специалиста в данной области техники, например, с помощью общедоступного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN, MEGALIGN (DNASTAR), CLUSTALW, CLUSTAL OMEGA или MUSCLE. Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей.

[00126] «Консервативная замена» или «консервативная аминокислотная замена» относится к замене аминокислоты на химически или функционально подобную аминокислоту. Таблицы консервативных замен, содержащие аналогичные аминокислоты, хорошо известны в данной области техники. В качестве примера, группы аминокислот, представленные в **таблицах 2-4**, в некоторых вариантах осуществления считаются консервативными заменами друг друга.

Таблица 2 Выбранные группы аминокислот, которые считаются консервативными заменами друг друга в определенных вариантах реализации.

<i>Кислотные остатки</i>	D и E
<i>Основные остатки</i>	K, R и H
<i>Гидрофильные незаряженные остатки</i>	S, T, N и Q
<i>Алифатические незаряженные остатки</i>	G, A, V, L и I
<i>Неполярные незаряженные остатки</i>	C, M и P
<i>Ароматические остатки</i>	F, Y и W

Таблица 3 Дополнительные выбранные группы аминокислот, которые считаются консервативными заменами друг друга в определенных вариантах реализации.

<i>Группа 1</i>	A, S и T
<i>Группа 2</i>	D и E
<i>Группа 3</i>	N и Q
<i>Группа 4</i>	R и K
<i>Группа 5</i>	I, L и M

Группа 6	F, Y и W

Таблица 4 Дальнейшие дополнительные выбранные группы аминокислот, которые считаются консервативными заменами друг друга в определенных вариантах реализации.

Группа A	A и G
Группа B	D и E
Группа C	N и Q
Группа D	R, K и H
Группа E	I, L, M, V
Группа F	F, Y и W
Группа G	S и T
Группа H	C и M

[00127] Дополнительные консервативные замены можно найти, например, в Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* 2nd ed. (1993) W. H. Freeman & Co., New York, NY. Антитело, полученное путем одной или более консервативных замен аминокислотных остатков в исходном антителе, называется «консервативно модифицированным вариантом».

[00128] Термин «аминокислота» относится к двадцати обычным встречающимся в природе аминокислотам. Встречающиеся в природе аминокислоты включают аланин (Ala; A), аргинин (Arg; R), аспарагин (Asn; N), аспарагиновую кислоту (Asp; D), цистеин (Cys; C); глутаминовую кислоту (Glu; E), глутамин (Gln; Q), глицин (Gly; G); гистидин (His; H), изолейцин (Ile; I), лейцин (Leu; L), лизин (Lys; K), метионин (Met; M), фенилаланин (Phe; F), пролин (Pro; P), серин (Ser; S), треонин (Thr; T), триптофан (Trp; W), тирозин (Tyr; Y) и валин (Val; V).

[00129] Термин «вектор» в контексте настоящего документа относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной к размножению другой нуклеиновой кислоты, с которой она связана. Термин включает вектор как самореплицирующуюся структуру нуклеиновой кислоты, а также вектор, который включен в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Некоторые векторы способны направлять экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. Такие векторы в данном документе называют «векторами экспрессии».

[00130] Термины «клетка-хозяин», «линия клеток-хозяев» и «культура клеток-хозяев» используются как взаимозаменяемые и относятся к клеткам, в которые введена экзогенная нуклеиновая кислота, и потомству таких клеток. Клетки-хозяева включают «трансформанты» (или «трансформированные клетки») и «трансфектанты» (или «трансфицированные клетки»), каждый из которых включает первично трансформированную или трансфицированную клетку и потомство, полученное от нее. Такое потомство может не быть полностью идентичным родительской клетке по содержанию нуклеиновой кислоты и может содержать мутации.

[00131] Термин «лечение» (и его вариации, такие как «лечить» или «процесс лечения») относится к клиническому вмешательству в попытке изменить естественное течение заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в этом. Лечение может проводиться как с профилактической целью, так и при течении клинической патологии. Желательные эффекты лечения включают предотвращение возникновения или рецидива заболевания, облегчение симптомов, уменьшение любых прямых или косвенных патологических последствий заболевания, предотвращение метастазирования, снижение скорости прогрессирования заболевания, улучшение или смягчение болезненного состояния, а также ремиссию или улучшение прогноза.

[00132] Используемый в данном документе термин «терапевтически эффективное количество» или «эффективное количество» относится к количеству антитела или фармацевтической композиции, представленной в данном документе, которое при введении субъекту эффективно для лечения заболевания или нарушения. Эффективного количества достаточно для достижения желаемых результатов или пользы у субъекта. Эффективное количество можно вводить за одно или более введений, применений или дозировок, и оно не ограничивается конкретным составом или путем введения.

[00133] Используемые в данном документе термины «исходные уровни» и «исходный уровень» относятся к уровням параметра (например, массы тела) непосредственно перед лечением или во время лечения.

[00134] Используемый в данном документе термин «субъект» означает субъекта-млекопитающее. Примеры субъектов включают людей, обезьян, собак, кошек, мышей, крыс, коров, лошадей, верблюдов, коз, кроликов, свиней и овец. В определенных вариантах осуществления субъект является человеком. В некоторых вариантах осуществления субъект страдает заболеванием или патологическим состоянием, которое можно лечить с помощью антител, представленных в данном документе. В некоторых аспектах заболевание или патологическое состояние представляет собой воспалительное заболевание. В некоторых аспектах заболевание или патологическое состояние включает неоваскуляризацию или васкулярное воспаление.

[00135] Используемая в данном документе фраза «субъект, нуждающийся в этом» относится к субъекту, у которого проявляются и/или диагностированы один или более симптомов или признаков воспалительного заболевания, как описано в данном документе.

[00136] Термин «листок-вкладыш» используется для обозначения инструкций, обычно включаемых в коммерческие упаковки терапевтических или диагностических продуктов (например наборы), которые содержат информацию о показаниях, применении, дозировке, введении, комбинированной терапии, противопоказаниях и/или предупреждениях относительно использования таких терапевтических или диагностических продуктов.

[00137] «Химиотерапевтическое средство» относится к химическому соединению, применимому при лечении рака. Химиотерапевтические агенты включают «антигормональные агенты» или «эндокринные терапевтические агенты», которые

действуют, регулируя, уменьшая, блокируя или подавляя эффекты гормонов, которые могут способствовать росту злокачественного новообразования.

[00138] Термин «цитостатический агент» относится к соединению или композиции, которые останавливают рост клетки *in vitro* или *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления цитостатический агент представляет собой агент, который снижает процент клеток в S-фазе. В некоторых вариантах осуществления цитостатический агент снижает процент клеток в S-фазе на по меньшей мере около 20%, на по меньшей мере около 40%, на по меньшей мере около 60% или на по меньшей мере около 80%.

[00139] Термин «фармацевтическая композиция» относится к препарату, который находится в такой форме, чтобы позволить биологической активности содержащегося в нем активного ингредиента быть эффективной при лечении субъекта, и который не содержит дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта в организме в количестве, предусмотренном в фармацевтической композиции.

[00140] Термины «модулировать» и «модуляция» относятся к снижению или ингибированию или, альтернативно, активации или увеличению указанной переменной.

[00141] Термины «увеличить» и «активировать» относятся к увеличению на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, в 2 раза, 3 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз или на большее значение в указанной переменной.

[00142] Термины «снижать» и «ингибировать» относятся к уменьшению на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 2-кратное, 3-кратное, 4-кратное, 5-кратное, 10-кратное, 20-кратное, 50-кратное, 100-кратное или большее значение в указанной переменной.

[00143] Термин «агонировать» относится к активации передачи сигналов рецептора, для вызова биологического ответа, связанного с активацией рецептора. «Агонист» представляет собой соединение, которое связывается с рецептором и агонизирует его.

[00144] Термин «антагонизировать» относится к ингибированию сигналинга рецептора для ингибирования биологического ответа, связанного с активацией рецептора. «Антагонист» представляет собой объект, который связывается с рецептором и антагонизирует с ним.

2. Антитела к TF

2.1. Связывание TF

[00145] В данном документе предложены выделенные антитела, которые специфически связываются с TF. В некоторых аспектах TF представляет собой hTF (SEQ ID NO:809). В некоторых аспектах TF представляет собой cTF (SEQ ID NO:813). В некоторых аспектах TF представляет собой mTF (SEQ ID NO:817). В некоторых аспектах TF представляет собой TF кролика (SEQ ID NO: 832). В некоторых аспектах TF представляет собой pTF (SEQ ID NO:824). В некоторых вариантах осуществления антитела, представленные в настоящем документе, специфически связываются с hTF (SEQ ID NO:809), cTF (SEQ ID NO:813), mTF (SEQ ID NO:817), TF кролика (SEQ ID NO:832) и

pTF (SEQ ID NO:824). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, специфически связываются с hTF (SEQ ID NO:809), cTF (SEQ ID NO:813), mTF (SEQ ID NO:817) и pTF (SEQ ID NO:824). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, специфически связываются с hTF (SEQ ID NO:809), cTF (SEQ ID NO:813) и mTF (SEQ ID NO:817). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, специфически связываются с hTF (SEQ ID NO:809) и cTF (SEQ ID NO:813). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не связывают mTF (SEQ ID NO: 817). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не связывают pTF (SEQ ID NO: 824). В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не связывают TF кролика (SEQ ID NO: 832).

[00146] В различных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, специфически связываются с внеклеточным доменом TF человека (SEQ ID NO: 810).

[00147] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K149N.

[00148] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 представляет собой K68N.

[00149] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутации в аминокислотных остатках 171 и 197

последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

[00150] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы составляет более 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00151] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы составляет более 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00152] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы составляет более 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00153] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00154] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-219 последовательности, представленной в SEQ ID NO:

810, замененными аминокислотными остатками 164-224 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00155] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00156] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00157] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, внеклеточного домена TF крысы, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00158] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, внеклеточного домена TF человека, составляет более 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено

медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00159] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 99-112 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и связывание антитела с внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками внеклеточного домена TF человека 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет более 50% связывания между антителом,

предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N; а мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K68N.

[00160] В некоторых вариантах осуществления связывание между антителом, предложенным в данном документе, и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 68 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет более 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 1-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 38-76 последовательности внеклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками внеклеточного домена 99-112 последовательности TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет более 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с

внклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 151-163 последовательности внклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внклеточным доменом последовательности TF, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с внклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-219 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-224 внклеточного домена последовательности TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с внклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 164-194 последовательности внклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с внклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками внклеточного домена TF крысы 164-179 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; связывание антитела, предложенного в данном документе, с внклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, замененными аминокислотными остатками 172-179 последовательности внклеточного домена TF крысы, представленной в SEQ ID NO: 838 составляет менее 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810; и связывание антитела, предложенного в данном документе, с внклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 838, замененными аминокислотными остатками внклеточного домена TF человека 136-189 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810 составляет более 50% связывания между антителом, предложенным в данном документе, и внклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления мутация в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K149N; мутация в аминокислотном остатке 68 последовательности,

представленной в SEQ ID NO: 810, представляет собой K68N, а мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, представляют собой N171H и T197K.

[00161] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, являются инертными в отношении ингибирования образования тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом M1593, где эталонное антитело M1593 содержит последовательность V_H SEQ ID NO: 821 и последовательность V_L SEQ ID NO: 822.

[00162] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не ингибируют образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA). В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, обеспечивают образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA).

[00163] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связывают TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FX человека. В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не влияют на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa.

[00164] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связывают TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека. В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa человека.

[00165] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связываются с внеклеточным доменом TF человека, связывают TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного с FVIIa человека, связывают TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FX человека, и обеспечивают образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA).

[00166] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связываются с внеклеточным доменом TF человека, не ингибируют образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA), не влияют на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa человека.

[00167] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связываются с внеклеточным доменом TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного с FVIIa человека, и не ингибируют образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA), обеспечивают образование тромбина человека, как

определено анализом образования тромбина (TGA), связываются с TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FX человека, не влияют на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa человека.

[00168] В некоторых вариантах осуществления, антитела, предложенные в данном документе, ингибируют FVIIa-зависимую передачу сигналов TF.

[00169] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, уменьшают размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV).

[00170] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связываются с внеклеточным доменом TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного с FVIIa человека, и не ингибируют образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA), обеспечивают образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA), связываются с TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FX человека, не влияют на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa, не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa человека и связываются с TF яванского макака и мыши.

[00171] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связываются с внеклеточным доменом TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного с FVIIa человека, и не ингибируют образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA), обеспечивают образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA), связываются с TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FX человека, не влияют на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa, не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa человека, связываются с TF яванского макака, мыши и свиньи, и уменьшают размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV).

[00172] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связываются с внеклеточным доменом TF человека, ингибируют FVIIa-зависимую передачу сигналов TF и связываются с TF яванского макака.

2.2. Последовательности антител к TF

2.2.1. Домены V_H

[00173] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H , выбранную из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:37. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:75. В

некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:113. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:151. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:189. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:836. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:227. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:265. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:303. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:341. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:379. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:417. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:455. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:493. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:531. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:569. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:607. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:645. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:683. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:721. В некоторых вариантах осуществления антители, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:759.

[00174] В некоторых вариантах осуществления антители, представленное в данном документе, содержит последовательность V_H, имеющую по меньшей мере около 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% идентичности с иллюстративной последовательностью V_H, предложенной в SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759. В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антители содержит последовательность V_H, предложенную в SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, или 25 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах

аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

2.2.2. Домены V_L

[00175] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L , выбранную из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:76. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:114. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:152. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:190. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:837. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:228. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:266. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:304. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:342. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:380. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:418. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:456. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:494. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:532. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:570. В некоторых вариантах осуществления антитело,

предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:608. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:646. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:684. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:722. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_L SEQ ID NO:760.

[00176] В некоторых вариантах осуществления антитело, представленное в данном документе, содержит последовательность V_L , имеющую по меньшей мере около 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% идентичности с иллюстративной последовательностью V_L , предложенной в SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит последовательность V_L , предложенную в SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722, и 760, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, или 25 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

2.2.3. Комбинации V_H - V_L

[00177] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H , выбранную из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, и последовательность V_L , выбранную из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760.

[00178] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:37 и последовательность V_L SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:75 и последовательность V_L SEQ ID NO:76. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит последовательность V_H SEQ ID NO:113 и последовательность V_L SEQ ID NO:114. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном

[00179] В некоторых вариантах осуществления антитело, представленное в данном документе, содержит последовательность V_H , имеющую по меньшей мере около 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% идентичности с иллюстративной последовательностью V_H , предложенной в SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455,

493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, и последовательность V_H , имеющую по меньшей мере около 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% идентичности с иллюстративной последовательностью V_H , предложенной в SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит последовательность V_H , предложенную в SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, или 25 аминокислотными заменами, и последовательность V_L , предложенную в SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722, и 760, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, или 25 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

2.2.4. CDR

[00180] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит от одной до трех CDR домена V_H , выбранных из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе содержит от двух до трех CDR домена V_H , выбранных из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе содержит три CDR домена V_H , выбранные из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759. В некоторых аспектах CDR представляют собой иллюстративные CDR. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR согласно Kabat. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR согласно Chothia. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR согласно AbM. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR согласно Contact. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по IMGT.

[00181] В некоторых вариантах осуществления CDR представляют собой CDR по меньшей мере на около 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичные CDR-H1, CDR-H2 или CDR-H3 SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721 и 759. В некоторых вариантах осуществления CDR-H1

представляет собой CDR-H1 домена V_H , выбранную из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4, или 5 аминокислотными заменами. В некоторых вариантах осуществления CDR-H2 представляет собой CDR-H2 домена V_H , выбранную из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 домена V_H , выбранную из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

[00182] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит от одной до трех CDR домена V_L , выбранных из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе содержит от двух до трех CDR домена V_L , выбранных из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе содержит три CDR домена V_L , выбранных из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых аспектах CDR представляют собой иллюстративные CDR. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR согласно Kabat. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR согласно Chothia. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR согласно AbM. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR согласно Contact. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по IMGT.

[00183] В некоторых вариантах осуществления CDR представляют собой CDR по меньшей мере на около 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичную CDR-L1, CDR-L2 или CDR-L3 SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления CDR-L1 представляет собой CDR-L1 домена V_L , выбранную из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722, и 760, с вплоть до 1, 2, 3, 4, или 5 аминокислотными заменами. В некоторых вариантах осуществления CDR-L2

представляет собой CDR-L2 домена V_L , выбранную из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722, и 760, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами. В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 представляет собой CDR-L3 домена V_L , выбранную из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722, и 760, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

[00184] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит от одной до трех CDR домена V_H , выбранных из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, и от одной до трех CDR домена V_L , выбранных из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе содержит от двух до трех CDR домена V_H , выбранных из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, и от двух до трех CDR домена V_L , выбранных из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе содержит три CDR домена V_H , выбранные из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, и трех CDR домена V_L , выбранных из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых аспектах CDR представляют собой иллюстративные CDR. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR согласно Kabat. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR согласно Chothia. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR согласно AbM. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR согласно Contact. В некоторых аспектах CDR представляют собой CDR по IMGT.

[00185] В некоторых вариантах осуществления CDR представляют собой CDR по меньшей мере на около 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичные CDR-H1, CDR-H2 или CDR-H3 SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, и имеющие по меньшей мере 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, или 95% идентичности с CDR-L1, CDR-L2, или CDR-L3 с SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190,

228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722 и 760. В некоторых вариантах осуществления CDR-H1 представляет собой CDR-H1 домена V_H, выбранную из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4, или 5 аминокислотными заменами; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 домена V_H, выбранную из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами; CDR-H3 представляет собой CDR-H3 домена V_H, выбранную из SEQ ID NO: 37, 75, 113, 151, 189, 227, 265, 303, 341, 379, 417, 455, 493, 531, 569, 607, 645, 683, 721, и 759, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотных замен; CDR-L1 представляет собой CDR-L1 домена V_L, выбранную из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722, и 760, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, или 6 аминокислотными заменами; CDR-L2 представляет собой CDR-L2 домена V_L, выбранную из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722, и 760, с вплоть до 1, 2, 3, или 4 аминокислотными заменами; и CDR-L3 представляет собой CDR-L3 домена V_L, выбранную из SEQ ID NO: 38, 76, 114, 152, 190, 228, 266, 304, 342, 380, 418, 456, 494, 532, 570, 608, 646, 684, 722, и 760, с вплоть до 1, 2, 3, 4, или 5 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

[00186] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687, и 725, как определено иллюстративной системе нумерации. В некоторых аспектах CDR-H3 имеет по меньшей мере около 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности с CDR-H3 SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687 и 725. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687, и 725, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем

созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

[00187] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686, и 724, как определено по иллюстративной системе нумерации. В некоторых аспектах CDR-H2 имеет по меньшей мере около 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности с CDR-H2 SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724. В некоторых вариантах осуществления CDR-H2 представляет собой CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686, и 724, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

[00188] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит CDR-H1, выбранную из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685, и 723, как определено по иллюстративной системе нумерации. В некоторых аспектах CDR-H1 имеет по меньшей мере около 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности с CDR-H1 SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685 и 723. В некоторых вариантах осуществления CDR-H1 представляет собой CDR-H1, выбранную из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685, и 723, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной

области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

[00189] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687, и 725, и CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724. В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687, и 725, CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686, и 724, и CDR-H1, выбранную из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685 и 723. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 имеет по меньшей мере около 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности с CDR-H3 с SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687, и 725, CDR-H2 имеет по меньшей мере 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, или 95% идентичности с CDR-H2 с SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686, и 724, и CDR-H1 имеет по меньшей мере 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, или 95% идентичности с CDR-H1 с SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685 и 723. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687, и 725, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами; CDR-H2 представляет собой CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотными заменами; и CDR-H1 представляет собой CDR-H1, выбранную из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685, и 723, с вплоть до 1, 2, 3, 4, или 5 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в этом абзаце, называют в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

[00190] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе

антитело содержит CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690, и 728, как определено по иллюстративной системе нумерации. В некоторых аспектах CDR-L3 имеет по меньшей мере около 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности с CDR-L3 SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690 и 728. В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 представляет собой CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690, и 728, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены de novo согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

[00191] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689, и 727, как определено по иллюстративной системе нумерации. В некоторых аспектах CDR-L2 имеет по меньшей мере около 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности с CDR-L2 SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689 и 727. В некоторых вариантах осуществления CDR-L2 представляет собой CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689, и 727, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены de novo согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

[00192] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит CDR-L1, выбранную из SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688, и 726, как определено по

иллюстративной системе нумерации. В некоторых аспектах CDR-L1 имеет по меньшей мере около 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности с CDR-L1 SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726. В некоторых вариантах осуществления CDR-L1 представляет собой CDR-L1, выбранную из SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688, и 726, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

[00193] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690, и 728, и CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689 и 727. В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690, и 728, CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689, и 727, и CDR-L1, выбранную из SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726. В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 имеет по меньшей мере около 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности с CDR-L3 с SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690, и 728, CDR-L2 имеет по меньшей мере 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, или 95% идентичности с CDR-L2 с SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689, и 727, и CDR-L1 имеет по меньшей мере 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, или 95% идентичности с CDR-L1 с SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726. В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 представляет собой CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690, и 728, с вплоть до 1, 2, 3, 4, или 5 аминокислотными заменами; CDR-L2 представляет собой CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689, и 727, с вплоть до 1, 2, 3, или 4 аминокислотными заменами; CDR-L1 представляет собой CDR-L1, выбранную из SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688, и 726, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, или

6 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

[00194] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687, и 725, CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686, и 724, CDR-H1, выбранную из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685, и 723, CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690, и 728, CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689, и 727, и CDR-L1, выбранную из SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 имеет по меньшей мере около 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности с CDR-H3 с SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687, и 725, CDR-H2 имеет по меньшей мере 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, или 95% идентичности с CDR-H2 с SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686, и 724, CDR-H1 имеет по меньшей мере 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, или 95% идентичности с CDR-H1 с SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685, и 723, CDR-L3 имеет по меньшей мере 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, или 95% идентичности с CDR-L3 с SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690, и 728, CDR-L2 имеет по меньшей мере 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, или 95% идентичности с CDR-L2 с SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689, и 727, и CDR-L1 имеет по меньшей мере 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, или 95% идентичности с CDR-L1 с SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688 и 726. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, 41, 79, 117, 155, 193, 231, 269, 307, 345, 383, 421, 459, 497, 535, 573, 611, 649, 687, и 725, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотными заменами; CDR-H2 представляет собой CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, 40, 78, 116, 154, 192, 230, 268, 306, 344, 382, 420, 458, 496, 534, 572, 610, 648, 686 и 724, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8

аминокислотными заменами; CDR-H1 представляет собой CDR-H1, выбранную из SEQ ID NO: 1, 39, 77, 115, 153, 191, 229, 267, 305, 343, 381, 419, 457, 495, 533, 571, 609, 647, 685, и 723, с вплоть до 1, 2, 3, 4, или 5 аминокислотными заменами; CDR-L3 представляет собой CDR-L3, выбранную из SEQ ID NO: 6, 44, 82, 120, 158, 196, 234, 272, 310, 348, 386, 424, 462, 500, 538, 576, 614, 652, 690, и 728, с вплоть до 1, 2, 3, 4, или 5 аминокислотными заменами; CDR-L2 представляет собой CDR-L2, выбранную из SEQ ID NO: 5, 43, 81, 119, 157, 195, 233, 271, 309, 347, 385, 423, 461, 499, 537, 575, 613, 651, 689, и 727, с вплоть до 1, 2, 3, или 4 аминокислотными заменами; CDR-L1 представляет собой CDR-L1, выбранную из SEQ ID NO: 4, 42, 80, 118, 156, 194, 232, 270, 308, 346, 384, 422, 460, 498, 536, 574, 612, 650, 688, и 726, с вплоть до 1, 2, 3, 4, 5, или 6 аминокислотными заменами. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получены из последовательности, представленной в данном документе, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления такие варианты не являются производными от последовательности, представленной в данном документе, и могут, например, быть выделены *de novo* согласно способам, представленным в данном документе, для получения антител.

[00195] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:1, CDR-H2 SEQ ID NO:2, CDR-H3 SEQ ID NO:3, CDR-L1 SEQ ID NO:4, CDR-L2 SEQ ID NO:5 и CDR-L1 SEQ ID NO:6, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00196] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:39, CDR-H2 SEQ ID NO:40, CDR-H3 SEQ ID NO:41, CDR-L1 SEQ ID NO:42, CDR-L2 SEQ ID NO:43 и CDR-L1 SEQ ID NO:44, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00197] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:77, CDR-H2 SEQ ID NO:78, CDR-H3 SEQ ID NO:79, CDR-L1 SEQ ID NO:80, CDR-L2 SEQ ID NO:81 и CDR-L1 SEQ ID NO:82, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00198] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:115, CDR-H2 SEQ ID NO:116, CDR-H3 SEQ ID NO:117, CDR-L1 SEQ ID NO:118, CDR-L2 SEQ ID NO:119 и CDR-L1 SEQ ID NO:120, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00199] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:153, CDR-H2 SEQ ID NO:154, CDR-H3 SEQ ID NO:155, CDR-L1 SEQ ID NO:156, CDR-L2 SEQ ID NO:157 и CDR-L1 SEQ ID NO:158, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00200] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:884, CDR-H2 SEQ ID NO:885, CDR-H3 SEQ ID NO:886, CDR-L1 SEQ ID NO:887, CDR-L2 SEQ ID NO:888 и CDR-L1 SEQ ID NO:889, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00201] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:191, CDR-H2 SEQ ID NO:192, CDR-H3 SEQ ID NO:193, CDR-L1 SEQ ID NO:194, CDR-L2 SEQ ID NO:195 и CDR-L1 SEQ ID NO:196, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00202] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:229, CDR-H2 SEQ ID NO:230, CDR-H3 SEQ ID NO:231, CDR-L1 SEQ ID NO:232, CDR-L2 SEQ ID NO:233 и CDR-L1 SEQ ID NO:234, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00203] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:267, CDR-H2 SEQ ID NO:268, CDR-H3 SEQ ID NO:269, CDR-L1 SEQ ID NO:270, CDR-L2 SEQ ID NO:271 и CDR-L1 SEQ ID NO:272, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00204] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:305, CDR-H2 SEQ ID NO:306, CDR-H3 SEQ ID NO:307, CDR-L1 SEQ ID NO:308, CDR-L2 SEQ ID NO:309 и CDR-L1 SEQ ID NO:310, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00205] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:343, CDR-H2 SEQ ID NO:344, CDR-H3 SEQ ID NO:345, CDR-L1 SEQ ID NO:346, CDR-L2 SEQ ID NO:347 и CDR-L1 SEQ ID NO:348, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00206] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:381, CDR-H2 SEQ ID NO:382, CDR-H3 SEQ ID NO:383, CDR-L1 SEQ ID NO:384, CDR-L2 SEQ ID NO:385 и CDR-L1 SEQ ID NO:386, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00207] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:419, CDR-H2 SEQ ID NO:420, CDR-H3 SEQ ID NO:421, CDR-L1 SEQ ID NO:422, CDR-L2 SEQ ID NO:423 и CDR-L1 SEQ ID NO:424, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00208] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:457, CDR-H2 SEQ ID NO:458, CDR-H3 SEQ ID NO:459, CDR-L1 SEQ ID NO:460, CDR-L2 SEQ ID NO:461 и CDR-L1 SEQ ID NO:462, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00209] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:495, CDR-H2 SEQ ID NO:496, CDR-H3 SEQ ID NO:497, CDR-L1 SEQ ID NO:498, CDR-L2 SEQ ID NO:499 и CDR-L1 SEQ ID NO:500, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00210] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:533, CDR-H2 SEQ ID NO:534, CDR-H3 SEQ ID NO:535, CDR-L1 SEQ ID NO:536, CDR-L2 SEQ ID NO:537 и CDR-L1 SEQ ID NO:538, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00211] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:571, CDR-H2 SEQ ID NO:572, CDR-H3 SEQ ID NO:573, CDR-L1 SEQ ID NO:574, CDR-L2 SEQ ID NO:575 и CDR-L1 SEQ ID NO:576, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00212] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:609, CDR-H2 SEQ ID NO:610, CDR-H3 SEQ ID NO:611, CDR-L1 SEQ ID NO:612, CDR-L2 SEQ ID NO:613 и CDR-L1 SEQ ID NO:614, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00213] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:647, CDR-H2 SEQ ID NO:648, CDR-H3 SEQ ID NO:649, CDR-L1 SEQ ID NO:650, CDR-L2 SEQ ID NO:651 и CDR-L1 SEQ ID NO:652, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00214] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:685, CDR-H2 SEQ ID NO:686, CDR-H3 SEQ ID NO:687, CDR-L1 SEQ ID NO:688, CDR-L2 SEQ ID NO:689 и CDR-L1 SEQ ID NO:690, как определено иллюстративной системой нумерации.

[00215] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит CDR-H1 SEQ ID NO:723, CDR-H2 SEQ ID NO:724, CDR-H3 SEQ ID NO:725, CDR-L1 SEQ ID NO:726, CDR-L2 SEQ ID NO:727 и CDR-L1 SEQ ID NO:728, как определено иллюстративной системой нумерации.

2.2.5. Консенсусные последовательности

[00216] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлено первое семейство антител, где антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность G-F-T-F-S- X_1 -Y-A-M- X_2 , где X_1 представляет собой D или S, и X_2 представляет собой A или G (SEQ ID NO:773); (b) CDR-H2, имеющую последовательность X_3 -I-S-G-S-G-G-L-T-Y-Y-A-D-S-V-K-G, где X_3 представляет собой A или T (SEQ ID NO:774); (c) CDR-H3, имеющую последовательность APYGYMDV (SEQ ID NO:775); (d) CDR-L1, имеющую последовательность RASQSISSWLA (SEQ ID NO:776); (e) CDR-L2, имеющую последовательность KASSLES (SEQ ID NO:777); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность QQYKSYIT (SEQ ID NO:778). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V_H SEQ ID NO:761 и последовательность V_L SEQ ID NO:762. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого первого семейства.

[00217] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлено второе семейство антител, где антитело такого семейства содержит следующие шесть

последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность G-Y-T-F-X₁-X₂-Y-G-I-S, где X₁ представляет собой D или R и X₂ представляет собой S или V (SEQ ID NO:779); (b) CDR-H2, имеющую последовательность W-X₃-A-P-Y-X₄-G-N-T-N-Y-A-Q-K-L-Q-G, где X₃ представляет собой I или V и X₄ представляет собой S или N (SEQ ID NO:780); (c) CDR-H3, имеющую последовательность D-A-G-T-Y-S-P-X₅-G-Y-G-M-D-V, где X₅ представляет собой F или Y (SEQ ID NO:781); (d) CDR-L1, имеющую последовательность X₆-A-S-X₇-S-I-X₈-X₉-W-L-A, где X₆ представляет собой R или Q, X₇ представляет собой Q, E или H, X₈ представляет собой S, D или N, и X₉ представляет собой S или N (SEQ ID NO:782); (e) CDR-L2, имеющую последовательность X₁₀-A-X₁₁-X₁₂-L-E-X₁₃, где X₁₀ представляет собой K или S, X₁₁ представляет собой S или Y, X₁₂ представляет собой S, Y или N, и X₁₃ представляет собой S или Y (SEQ ID NO:783); (f) CDR-L3, имеющую последовательность Q-X₁₄-F-Q-X₁₅-L-P-P-F-T, где X₁₄ представляет собой Q, L или R и X₁₅ представляет собой S или K (SEQ ID NO:784). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V_H SEQ ID NO:763 и последовательность V_L SEQ ID NO:764. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого второго семейства.

[00218] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлено третье семейство антител, где антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность G-F-T-F-X₁-S-X₂-G-M-H, где X₁ представляет собой H или R, и X₂ представляет собой R или Y (SEQ ID NO:785); (b) CDR-H2, имеющую последовательность VITYDGINKYYADSVEG (SEQ ID NO:786); (c) CDR-H3, имеющую последовательность DGVYYGVYDY (SEQ ID NO:787); (d) CDR-L1, имеющую последовательность KSSQSVLFSSNNKNYLA (SEQ ID NO:788); (e) CDR-L2, имеющую последовательность WASTRES (SEQ ID NO:789); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность QQFHSYPLT (SEQ ID NO:790). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V_H SEQ ID NO:765 и последовательность V_L SEQ ID NO:766. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого третьего семейства.

[00219] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлено четвертое семейство антител, где антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность GGTFSSNAIG (SEQ ID NO:791); (b) CDR-H2, имеющую последовательность SIPIIGFANYAQKFQG (SEQ ID NO:792); (c) CDR-H3, имеющую последовательность DSGYYYGASSFGMDV (SEQ ID NO:793); (d) CDR-L1, имеющую последовательность RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:794); (e) CDR-L2, имеющую последовательность GASTRAT (SEQ ID NO:795); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность EQYNNLPLT (SEQ ID NO:796). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V_H SEQ ID NO:767 и последовательность V_L SEQ ID NO:768. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого четвертого семейства.

[00220] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлено

шестое семейство антител, где антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность G-G-S-X₁-S-S-G-X₂-Y-W-S, где X₁ представляет собой I или L и X₂ представляет собой Q или Y (SEQ ID NO:797); (b) CDR-H2, имеющую последовательность E-I-X₃-X₄-S-G-S-T-R-Y-N-P-S-L-K-S, где X₃ представляет собой Y или G и X₄ представляет собой Y или A (SEQ ID NO:798); (c) CDR-H3, имеющую последовательность D-X₅-P-Y-Y-Y-X₆-G-G-Y-Y-Y-Y-M-D-V, где X₅ представляет собой T или A и X₆ представляет собой E, G, или D (SEQ ID NO:799); (d) CDR-L1, имеющую последовательность R-A-S-X₇-S-V-X₈-S-S-X₉-L-A, где X₇ представляет собой Q, E, или D, X₈ представляет собой S или D, и X₉ представляет собой Y или F (SEQ ID NO:800); (e) CDR-L2, имеющую последовательность G-A-X₁₀-X₁₁-R-X₁₂-X₁₃, где X₁₀ представляет собой S, D, F, или Y, X₁₁ представляет собой S или T, X₁₂ представляет собой A или Q, и X₁₃ представляет собой T или N (SEQ ID NO:801); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность Q-Q-X₁₄-G-V-V-P-Y-T, где X₁₄ представляет собой V, A или D (SEQ ID NO:802). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V_H SEQ ID NO:769 и последовательность V_L SEQ ID NO:770. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого пятого семейства.

[00221] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлено шестое семейство антител, где антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность GYTFANYYMН (SEQ ID NO:803); (b) CDR-H2, имеющую последовательность IINPSGGITVYAQKFQG (SEQ ID NO:804); (c) CDR-H3, имеющую последовательность GGSKVAALAFDI (SEQ ID NO:805); (d) CDR-L1, имеющую последовательность QASQDISNSLN (SEQ ID NO:806); (e) CDR-L2, имеющую последовательность DASNLET (SEQ ID NO:807); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность QQYNFHPLT (SEQ ID NO:808). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V_H SEQ ID NO:771 и последовательность V_L SEQ ID NO:772. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого шестого семейства.

[00222] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлено седьмое семейство антител, где антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность G-Y-T-F-D-X₁-Y-G-I-S, где X₁ представляет собой V или A (SEQ ID NO:872); (b) CDR-H2, имеющую последовательность W-I-A-P-Y-X₂-G-N-T-N-Y-A-Q-K-L-Q-G, где X₂ представляет собой N или S (SEQ ID NO:873); (c) CDR-H3, имеющую последовательность D-A-G-T-Y-S-P-F-G-Y-G-M-D-V (SEQ ID NO:874); (d) CDR-L1, имеющую последовательность X₃-A-S-X₄-S-I-X₅-X₆-W-L-A, где X₃ представляет собой R или Q, X₄ представляет собой Q или E, X₅ представляет собой S или N, и X₆ представляет собой S или N (SEQ ID NO:875); (e) CDR-L2, имеющую последовательность K-A-X₇-X₈-L-E-X₉, где X₇ представляет собой S или Y, X₈ представляет собой S или N, и X₉ представляет собой S или Y (SEQ ID NO:876); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность Q-X₁₀-F-Q-X₁₁-L-P-P-F-T, где X₁₀ представляет

собой Q или L, и X₁₁ представляет собой S или K (SEQ ID NO:877). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V_H SEQ ID NO:868 и последовательность V_L SEQ ID NO:869. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого седьмого семейства.

[00223] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлено восьмое семейство антител, где антитело такого семейства содержит следующие шесть последовательностей CDR: (a) CDR-H1, имеющую последовательность G-Y-T-F-R-S-Y-G-I-S (SEQ ID NO:878); (b) CDR-H2, имеющую последовательность W-V-A-P-Y-X₁-G-N-T-N-Y-A-Q-K-L-Q-G, где X₁ представляет собой S или N (SEQ ID NO:879); (c) CDR-H3, имеющую последовательность D-A-G-T-Y-S-P-Y-G-Y-G-M-D-V (SEQ ID NO:880); (d) CDR-L1, имеющую последовательность X₂-A-S-X₃-S-I-X₄-S-W-L-A, где X₂ представляет собой R или Q, X₃ представляет собой Q или H, X₄ представляет собой S или D (SEQ ID NO:881); (e) CDR-L2, имеющую последовательность X₅-A-S-X₆-L-E-S, где X₅ представляет собой K или S, X₆ представляет собой S или Y (SEQ ID NO:882); и (f) CDR-L3, имеющую последовательность Q-X₇-F-Q-S-L-P-P-F-T, где X₇ представляет собой Q, L или R (SEQ ID NO:883). В некоторых вариантах осуществления антитело такого семейства содержит последовательность V_H SEQ ID NO:870 и последовательность V_L SEQ ID NO:871. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело из такого восьмого семейства.

2.2.6. Функциональные свойства вариантов антител

[00224] Как описано выше и в другом месте в данном изобретении, в данном документе предложены варианты антител, определенные на основе процента идентичности с иллюстративной последовательностью антитела, представленной в данном документе, или замен аминокислотных остатков по сравнению с иллюстративной последовательностью антитела, представленной в данном документе.

[00225] В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к hTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к cTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к mTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к hTF и cTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к hTF и mTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к cTF и mTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обладает специфичностью к hTF, cTF и mTF.

[00226] В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью K_D, к hTF, которая в около 1,5 раз, около 2 раз, около 3 раз, около 4 раз, около 5 раз, около 6 раз, около 7 раз, около 8 раз,

около 9 раз или около 10 раз больше аффинности такого иллюстративного антитела. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью K_D , к сTF, которая в около 1,5 раз, около 2 раз, около 3 раз, около 4 раз, около 5 раз, около 6 раз, около 7 раз, около 8 раз, около 9 раз или около 10 раз больше аффинности такого иллюстративного антитела. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью K_D , к mTF, которая в около 1,5 раз, около 2 раз, около 3 раз, около 4 раз, около 5 раз, около 6 раз, около 7 раз, около 8 раз, около 9 раз или около 10 раз больше аффинности такого иллюстративного антитела. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью K_D , к hTF и сTF, которая в около 1,5 раз, около 2 раз, около 3 раз, около 4 раз, около 5 раз, около 6 раз, около 7 раз, около 8 раз, около 9 раз или около 10 раз больше аффинности такого иллюстративного антитела. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью K_D , к hTF и mTF, которая в около 1,5 раз, около 2 раз, около 3 раз, около 4 раз, около 5 раз, около 6 раз, около 7 раз, около 8 раз, около 9 раз или около 10 раз больше аффинности такого иллюстративного антитела. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью K_D , к сTF и mTF, которая в около 1,5 раз, около 2 раз, около 3 раз, около 4 раз, около 5 раз, около 6 раз, около 7 раз, около 8 раз, около 9 раз или около 10 раз больше аффинности такого иллюстративного антитела. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, который происходит из иллюстративной последовательности антитела, предложенной в данном документе, сохраняет аффинность, измеренную с помощью K_D , к hTF, сTF и mTF, которая в около 1,5 раз, около 2 раз, около 3 раз, около 4 раз, около 5 раз, около 6 раз, около 7 раз, около 8 раз, около 9 раз или около 10 раз больше аффинности такого иллюстративного антитела.

[00227] В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, сохраняет способность ингибировать передачу сигналов TF, что измерено одним или более анализами или биологическими эффектами, описанными в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, сохраняет нормальную функцию TF в процессах свертывания крови.

[00228] В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, конкурирует за связывание с TF с антителом, выбранным из 1F, 1G, 25A, 25A3, 25A5, 25A5-T, 25G, 25G1, 25G9, 29D, 29E, 39A, 43B, 43B1, 43B7, 43D, 43D7,

43D8, 43E, 43Ea и 54E, каждое является таким, как предложено в **Таблице 13** данного документа. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, конкурирует за связывание с TF с антителом, выбранным из 25A, 25A3, 25A5, 25A5-T, 25G, 25G1 и 25G9. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, конкурирует за связывание с TF с антителом, выбранным из 43B, 43B1, 43B7, 43D, 43D7, 43D8, 43E и 43Ea. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, конкурирует за связывание с TF с антителом, выбранным из 25A, 25A3, 25A5, 25A5-T, 25G, 25G1, 25G9, 43B, 43B1, 43B7, 43D, 43D7, 43D8, 43E и 43Ea. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, конкурирует за связывание с TF с антителом, выбранным из 1F, 1G, 29D, 29E, 39A или 54E.

[00229] В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, обеспечивает образование тромбина человека, как определено с помощью анализа образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, не ингибирует образование тромбина человека, как определено с помощью анализа образования тромбина (TGA).

[00230] В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FX человека. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, не влияет на способность TF:FVIIa преобразовывать FX в FXa.

[00231] В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.

[00232] В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, ингибирует FVIIa-зависимую передачу сигналов TF.

[00233] В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает TF мыши (SEQ ID NO: 817). В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает TF мыши с аффинностью более низкой (на что указывает более высокая K_D), чем аффинность антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, не связывает mTF.

[00234] В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает TF свиньи (SEQ ID NO: 824). В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает TF свиньи с аффинностью более низкой (на что указывает более высокая K_D), чем аффинность антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, не связывает pTF.

[00235] В некоторых вариантах осуществления вариант антитела, предложенный в данном документе, связывает тот же эпитоп TF, что и такое антитело.

2.2.7. Другие функциональные свойства антител

[00236] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело имеет одну или более характеристик, перечисленных в следующих пунктах (a)-(dd): (a) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; (b) не ингибирует образование тромбина у человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); (c) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (e) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), как определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (f) обеспечивает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); (g) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (h) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (i) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), как определено по площади под кривой образования тромбина по сравнению с изотипическим контролем; (j) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FX человека; (k) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (l) не конкурирует за связывание с FX человека с FVIIa человека; (m) ингибирует FVIIa-зависимый сигналинг TF; (n) связывается с TF яванского макака; (o) связывается с TF мыши; (p) связывается с TF кролика; (q) связывается с TF свиньи; (r) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV); (s) связывание между антителом и внеклеточным доменом варианта TF, содержащим мутацию аминокислотного остатка 149 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет менее 50% от связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианной интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (t) связывание между антителом и вариантным внеклеточным доменом TF, содержащим мутацию аминокислотного остатка 68 в последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет более 50% от связывания между антителом и внеклеточным доменом TF в последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (u) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет менее 50% от связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как

[illegible]

составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (bb) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-174 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 164-179 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (cc) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 172-179 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (dd) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, замененными аминокислотными остатками 136-189 внеклеточного домена TF человека из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, превышает 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет две или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет три или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет четыре или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет пять или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет шесть или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет семь или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет восемь или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет девять или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело,

[00237] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело имеет одну или более характеристик, перечисленных в следующих пунктах (a)-(dd): (a) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; (b) не ингибирует образование тромбина у человека, как определено с помощью анализа образования тромбина (TGA); (c) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (e) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), как определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (f) обеспечивает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); (g) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (h) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (i) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), как определено по площади под кривой образования тромбина по сравнению с изотипическим контролем; (j) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FX человека; (k) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (l) не конкурирует за связывание с FX человека с FVIIa человека; (m) ингибирует FVIIa-зависимый сигналинг TF; (n) связывается с TF яванского макака; (o) связывается с TF мыши; (p) связывается с TF кролика; (q) связывается с TF свиньи; (r) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV); (s) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K149N последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет менее 50% от связывания между антителом и внеклеточным доменом TF, последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (t) связывание между антителом и внеклеточным доменом варианта TF, содержащим мутацию K68N последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет более 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (u) связывание между антителом и внеклеточным доменом варианта TF, содержащим мутации N171H и T197K последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет менее 50% от связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (v) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810,

[illegible]

(bb) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-174 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 164-179 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838 составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток;

(cc) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 172-179 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, представленной в SEQ ID NO:838, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (dd) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, замененными аминокислотными остатками 136-189 внеклеточного домена TF человека из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, превышает 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет две или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет три или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет четыре или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет пять или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет шесть или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет семь или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет восемь или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет девять или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет десять или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, имеет одиннадцать или более характеристик (a)-(dd), перечисленных выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном

[00238] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, демонстрирует комбинацию характеристик, включающую две или более характеристик, перечисленных в следующих пунктах (a)-(dd): (a) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека,

связанного FVIIa человека; (b) не ингибирует образование тромбина у человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); (c) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (e) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), как определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (f) обеспечивает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); (g) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (h) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (i) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), как определено по площади под кривой образования тромбина по сравнению с изотипическим контролем; (j) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FX человека; (k) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (l) не конкурирует за связывание с FX человека с FVIIa человека; (m) ингибирует FVIIa-зависимый сигналинг TF; (n) связывается с TF яванского макака; (o) связывается с TF мыши; (p) связывается с TF кролика; (q) связывается с TF свиньи; (r) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV); (s) связывание между антителом и внеклеточным доменом варианта TF, содержащим мутацию аминокислотного остатка 149 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет менее 50% от связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианной интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (t) связывание между антителом и вариантным внеклеточным доменом TF, содержащим мутацию аминокислотного остатка 68 в последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет более 50% от связывания между антителом и внеклеточным доменом TF в последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (u) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет менее 50% от связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианной интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (v) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 1-76 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, превышает 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом

[illegible]

внуклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, составляет менее 50% связывания между антителом и внуклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (cc) связывание между антителом и внуклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 172-179 внуклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, составляет менее 50% связывания между антителом и внуклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (dd) связывание между антителом и внуклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, замененными аминокислотными остатками 136-189 внуклеточного домена TF человека из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, превышает 50% связывания между антителом и внуклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00239] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, демонстрирует комбинацию характеристик, включающую две или более характеристик, перечисленных в следующих пунктах (a)-(dd): (a) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; (b) не ингибирует образование тромбина у человека, как определено с помощью анализа образования тромбина (TGA); (c) не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (d) не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (e) не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), как определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем; (f) обеспечивает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); (g) поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик IIa) по сравнению с изотипическим контролем; (h) поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем; (i) сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), как определено по площади под кривой образования тромбина по сравнению с изотипическим контролем; (j) связывает TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FX человека; (k) не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa; (l) не конкурирует за связывание с FX человека с FVIIa человека; (m) ингибирует FVIIa-зависимый сигналинг TF; (n) связывается с TF яванского макака; (o) связывается с

TF мыши; (p) связывается с TF кролика; (q) связывается с TF свиньи; (r) уменьшает размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV); (s) связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K149N последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет менее 50% от связывания между антителом и внеклеточным доменом TF, последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (t) связывание между антителом и внеклеточным доменом варианта TF, содержащим мутацию K68N последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет более 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (u) связывание между антителом и внеклеточным доменом варианта TF, содержащим мутации N171H и T197K последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет менее 50% от связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (v) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 1-77 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 1-76 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, превышает 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (w) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 39-77 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 38-76 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, превышает 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (x) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 94-107 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 99-112 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, превышает 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (y) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 146-158 последовательности,

приведенной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 151-163 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (z) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-219 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 164-224 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (aa) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-189 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 164-194 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (bb) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 159-174 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 164-179 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; (cc) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF человека с аминокислотными остатками 167-174 последовательности, представленной в SEQ ID NO:810, замененными аминокислотными остатками 172-179 внеклеточного домена TF крысы из последовательности, представленной в SEQ ID NO:838, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и (dd) связывание между антителом и внеклеточным доменом TF крысы с аминокислотными остатками 141-194 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:838, замененными аминокислотными остатками 136-189 внеклеточного домена TF человека из последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, превышает 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела

относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00240] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного с FVIIa человека; не ингибирует образование тромбина человека, как определено с помощью анализа образования тромбина (TGA); и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации по аминокислотным остаткам 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00241] В некоторых вариантах осуществления, предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; не ингибирует образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00242] В некоторых вариантах осуществления, предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; допускает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00243] В некоторых вариантах осуществления, предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; обеспечивает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания

между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00244] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; не ингибирует образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00245] В некоторых вариантах осуществления, предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; не ингибирует образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K149N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00246] В некоторых вариантах осуществления, предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; допускает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке

149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено медианным значением интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00247] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; обеспечивает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K149N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00248] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; не ингибирует образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); связывается с TF яванского макака; связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в

SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00249] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; не ингибирует образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); связывается с TF яванского макака; связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию K149N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00250] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; обеспечивает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); связывается с TF яванского макака; связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации в аминокислотных остатках 171 и 197 последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

[00251] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело демонстрирует комбинацию характеристик, перечисленных ниже: связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека; обеспечивает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA); связывается с TF яванского макака; связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим

мутацию K149N в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток; и связывание между антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутации N171H и T197K в последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, составляет менее 50% связывания между антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, представленной в SEQ ID NO: 810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

2.3. Аффинность и другие свойства антител к TF

2.3.1. Аффинность антител к TF

[00252] В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к TF, как показано посредством K_D , составляет менее чем около 10^{-5} М, менее чем около 10^{-6} М, менее чем около 10^{-7} М, менее чем около 10^{-8} М, менее чем около 10^{-9} М, менее чем около 10^{-10} М, менее чем около 10^{-11} М или менее чем около 10^{-12} М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около 10^{-7} М до 10^{-12} М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около 10^{-7} М до 10^{-11} М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около 10^{-7} М до 10^{-10} М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около 10^{-7} М до 10^{-9} М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около 10^{-7} М до 10^{-8} М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около 10^{-8} М до 10^{-12} М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около 10^{-8} М до 10^{-11} М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около 10^{-9} М до 10^{-11} М. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела составляет от около 10^{-10} М до 10^{-11} М.

[00253] В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к сTF составляет не более чем $15\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к сTF составляет не более чем $10\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к сTF составляет не более чем $8\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к сTF составляет не более чем $5\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к сTF составляет не более чем $3\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к сTF составляет не более чем $2\times$ от значения K_D антитела к hTF.

[00254] В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в

данном документе антитела к mTF составляет не более чем $20\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к mTF составляет не более чем $15\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к mTF составляет не более чем $10\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к mTF составляет не более чем $5\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к mTF составляет не более чем $2\times$ от значения K_D антитела к hTF.

[00255] В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к hTF, обозначенную K_D измеренную Biacore, и указанную в **Таблице 5** выбирают из около 0,31 нМ, около 6,20 нМ, около 0,36 нМ, около 0,08 нМ, около 23,0 нМ, около 0,94 нМ, около 13,3 нМ, около 0,47 нМ, около 0,09 нМ, около 1,75 нМ, около 0,07 нМ, около 0,14 нМ, около 2,09 нМ, около 0,06 нМ, около 0,15 нМ, около 1,46 нМ, около 1,60 нМ и около 0,42 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность, обозначенная K_D , находится в диапазоне от около 23,0 нМ до около 0,06 нМ. В некоторых вариантах осуществления она составляет около 23,0 нМ или менее.

[00256] В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к hTF, обозначенную K_D , измеренную ForteBio, и указанную в **Таблице 5** выбирают из около 1,28 нМ, около 2,20 нМ, около 8,45 нМ, около 1,67 нМ, около 0,64 нМ, около 21,9 нМ, около 3,97 нМ, около 35,8 нМ, около 3,30 нМ, около 2,32 нМ, около 0,83 нМ, около 2,40 нМ, около 0,96 нМ, около 0,86 нМ, около 3,84 нМ, около 1,02 нМ, около 1,61 нМ, около 2,52 нМ, около 2,28 нМ и около 1,59 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность, обозначенная K_D , находится в диапазоне от около 35,8 нМ до около 0,64 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая K_D составляет около 35,8 нМ или менее.

[00257] В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к cTF, обозначенную K_D измеренную Biacore, и указанную в **Таблице 5** выбирают из около 0,26 нМ, около 5,42 нМ, около 0,21 нМ, около 0,04 нМ, около 18,0 нМ, около 0,78 нМ, около 16,4 нМ, около 5,06 нМ, около 0,08 нМ, около 5,64 нМ, около 0,12 нМ, около 0,24 нМ, около 5,66 нМ, около 0,39 нМ, около 5,69 нМ, около 6,42 нМ и около 1,83 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность, обозначенная K_D , находится в диапазоне от около 18,0 нМ до около 0,04 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая K_D составляет около 18,0 нМ или менее.

[00258] В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к cTF, обозначенную K_D , измеренную ForteBio, и указанную в **Таблице 5** выбирают из около 1,43 нМ, около 2,70 нМ, около 7,65 нМ, около 1,36 нМ, около 0,76 нМ, около 17,5 нМ, около 4,99 нМ, около 42,9 нМ, около 12,0 нМ, около 15,0 нМ, около 0,57 нМ, около 3,40 нМ, около 1,05 нМ, около 0,94 нМ, около 4,12 нМ, около 1,11 нМ, около 1,96 нМ, около 4,07 нМ, около 2,71 нМ и около 4,16 нМ. В некоторых

вариантах осуществления такая аффинность, обозначенная K_D , находится в диапазоне от около 42,9 нМ до около 0,57 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая K_D составляет около 42,9 нМ или менее.

[00259] В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к mTF, обозначенную K_D измеренную Biacore, и указанную в **Таблице 5** выбирают из около 5,4 нМ, около 2,9 нМ, около 21 нМ и около 2,4 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность, обозначенная K_D , находится в диапазоне от около 21 нМ до около 2,4 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая K_D составляет около 21 нМ или менее.

[00260] В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к mTF, обозначенную K_D измеренную ForteBio, и указанную в **Таблице 5** выбирают из около 263 нМ, около 131 нМ, около 188 нМ, около 114 нМ, около 34,2 нМ, около 9,16 нМ, около 161 нМ, около 72,1 нМ, около 360 нМ, около 281 нМ, около 41,4 нМ, около 6,12 нМ, около 121 нМ и около 140 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность, обозначенная K_D , находится в диапазоне от около 360 нМ до около 6,12 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая K_D составляет около 360 нМ или менее.

[00261] В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела, представленного в данном документе, к hTF, как указано в EC_{50} , измеренная с человеческими TF-положительными клетками НСТ-116 (как указано в международной заявке РСТ РСТ/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включены в данный документ посредством ссылки) выбрано из около 50 пМ, около 58 пМ, около 169 пМ, около 77 пМ, около 88 пМ, около 134 пМ, около 85 пМ, около 237 пМ, около 152 пМ, около 39 пМ, около 559 пМ, около 280 пМ, около 255 пМ, около 147 пМ, около 94 пМ, около 117 пМ, около 687 пМ, около 532 пМ и около 239 пМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность находится в диапазоне от около 687 пМ до около 39 пМ. В некоторых вариантах осуществления такая EC_{50} составляет около 687 пМ или менее.

[00262] В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела, предложенного в данном документе, к mTF, как указано с помощью EC_{50} , измеренная с использованием мышиных TF-положительных клеток СНО (как указано в международной заявке РСТ РСТ/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, включенной в данный документ по ссылке полностью) выбран из около 455 нМ, около 87 нМ, около 11 нМ, около 3,9 нМ, около 3,0 нМ, около 3,4 нМ, около 255 нМ, около 2,9 нМ, около 3,6 нМ и около 4,0 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая аффинность находится в диапазоне от около 455 нМ до около 2,9 нМ. В некоторых вариантах осуществления такая EC_{50} составляет около 455 пМ или менее.

[00263] В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к pTF составляет не более чем $20\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном

документе антитела к pTF составляет не более чем $15\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к pTF составляет не более чем $10\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к pTF составляет не более чем $5\times$ от значения K_D антитела к hTF. В некоторых вариантах осуществления значение K_D предложенного в данном документе антитела к pTF составляет не более чем $2\times$ от значения K_D антитела к hTF.

[00264] В некоторых вариантах осуществления аффинность предложенного в данном документе антитела к pTF, обозначенная K_D измеренную ViaSage, и указанная в Таблице 40 составляет 3,31 нМ или 12,9 нМ.

2.3.2. Образование тромбина в присутствии антител к TF

[00265] В некоторых вариантах осуществления антитела к TF, предложенные в данном документе, не ингибируют образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA). В определенных вариантах осуществления антитела к TF, предложенные в данном документе, обеспечивают образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA).

[00266] В некоторых вариантах осуществления процент пикового образования тромбина (% пика Па) составляет по меньшей мере 40% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 50% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 60% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 70% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 99% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом

[00268] В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 60% в присутствии не менее 10 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 70% в присутствии не менее 10 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 10 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 10 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 10 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % пика Па

составляет по меньшей мере 99% в присутствии не менее 10 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA).

[00269] В некоторых вариантах осуществления % пика Па в присутствии 100 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 6** и **Таблице 37**, выбирают из около 99%, около 100%, около 103%, около 64%, около 52%, около 87%, около 96%, около 98% и около 53% по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA) без предварительной инкубации с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет от около 52% до около 103%. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет около 52% или более

[00270] В некоторых вариантах осуществления % пика Па в присутствии 50 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 6** и **Таблице 37**, выбирают из около 99%, около 100%, около 103%, около 67%, около 58%, около 89%, около 96%, около 98%, около 68%, около 62% и около 88% по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA) без предварительной инкубации с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет от около 58% до около 103%. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет около 58% или более

[00271] В некоторых вариантах осуществления % пика Па в присутствии 10 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 6** и **Таблице 37**, выбирают из около 100%, около 99%, около 103%, около 87%, около 83%, около 95%, около 98%, около 86% и около 96% по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA) без предварительной инкубации с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет от около 83% до около 103%. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет около 83% или более

[00272] В некоторых вариантах осуществления % пика Па в присутствии 100 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 7** и **Таблице 38**, выбирают из около 108%, около 105%, около 111%, около 58%, около 47%, около 91%, около 103%, около 109%, около 107% и около 45% по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA) с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет от около 45% до около 111%. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет около 45% или более

[00273] В некоторых вариантах осуществления % пика Па в присутствии 50 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 7** и **Таблице 38**, выбирают из около 107%, около 104%, около 114%, около 62%, около 49%, около 87%, около 105%, около 109%, около 55% и около 92% по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA) с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет от около 49% до около 114%. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет

около 49% или более

[00274] В некоторых вариантах осуществления % пика Па в присутствии 10 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 7** и **Таблице 38**, выбирают из около 105%, около 114%, около 76%, около 68%, около 94%, около 108%, около 104%, около 74% и около 93% по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA) с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет от около 68% до около 114%. В некоторых вариантах осуществления такой % пика Па составляет около 68% или более

[00275] В некоторых вариантах осуществления процент потенциала эндогенного тромбина (% ЕТР) составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % ЕТР составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % ЕТР составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % ЕТР составляет по меньшей мере 99% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA).

[00276] В некоторых вариантах осуществления % ЕТР составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 50 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % ЕТР составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 50 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % ЕТР составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 50 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % ЕТР составляет по меньшей мере 99% в присутствии не менее 50 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA).

[00277] В некоторых вариантах осуществления % ЕТР составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 10 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % ЕТР составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 10 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % ЕТР составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 10 нМ

антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA). В некоторых вариантах осуществления % ЕТР составляет по меньшей мере 99% в присутствии не менее 10 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA).

[00278] В некоторых вариантах осуществления % ЕТР в присутствии 100 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 6** и **Таблице 37**, выбирают из около 108%, около 103%, около 109%, около 100%, около 96%, около 102%, около 105% и около 92% по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA) без предварительной инкубации с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет от около 92% до около 109%. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет около 92% или более

[00279] В некоторых вариантах осуществления % ЕТР в присутствии 50 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 6** и **Таблице 37**, выбирают из около 108%, около 103%, около 111%, около 101%, около 97%, около 104%, около 106%, около 93%, около 96% и около 105% по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA) без предварительной инкубации с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет от около 93% до около 111%. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет около 93% или более

[00280] В некоторых вариантах осуществления % ЕТР в присутствии 10 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 6** и **Таблице 37**, выбирают из около 106%, около 109%, около 105%, около 104%, около 107%, около 99%, около 101% и около 102% по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA) без предварительной инкубации с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет от около 99% до около 109%. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет около 99% или более

[00281] В некоторых вариантах осуществления % ЕТР в присутствии 100 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 7** и **Таблице 38**, выбирают из около 110%, около 104%, около 106%, около 98%, около 95%, около 108%, около 107%, около 96%, около 92% и около 103% по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA) с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет от около 92% до около 110%. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет около 92% или более

[00282] В некоторых вариантах осуществления % ЕТР в присутствии 50 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 7** и **Таблице 38**, выбирают из около 110%, около 106%, около 108%, около 103%, около 96%, около 109%, около 102%, около 104%, около 94% и около 98% по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA) с 10 минутной предварительной инкубацией с

антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет от около 94% до около 110%. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет около 94% или более

[00283] В некоторых вариантах осуществления % ЕТР в присутствии 10 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 7** и **Таблице 38**, выбирают из около 107%, около 106%, около 110%, около 103%, около 100%, около 105%, около 102% и около 101% по сравнению с контрольными условиями без антитела, как определено анализом образования тромбина (TGA) с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет от около 100% до около 110%. В некоторых вариантах осуществления такой % ЕТР составляет около 100% или более

2.3.3. Конверсия FXa в присутствии антител к TF

[00284] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связывают TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FX человека. В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не влияют на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa.

[00285] В некоторых вариантах осуществления процент превращения FXa (% FXa) составляет по меньшей мере 75% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FXa составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FXa составляет по меньшей мере 85% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FXa составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FXa составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

[00286] В некоторых вариантах осуществления % FXa составляет по меньшей мере 75% в присутствии не менее 50 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FXa составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 50 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FXa составляет по меньшей мере 85% в присутствии не менее 50 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FXa составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 50 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FXa составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 50 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

[00287] В некоторых вариантах осуществления % FХa составляет по меньшей мере 75% в присутствии не менее 25 нМ антитела к ТF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FХa составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 25 нМ антитела к ТF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FХa составляет по меньшей мере 85% в присутствии не менее 25 нМ антитела к ТF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FХa составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 25 нМ антитела к ТF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FХa составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 25 нМ антитела к ТF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

[00288] В некоторых вариантах осуществления % FХa составляет по меньшей мере 75% в присутствии не менее 12,5 нМ антитела к ТF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FХa составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 12,5 нМ антитела к ТF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FХa составляет по меньшей мере 85% в присутствии не менее 12,5 нМ антитела к ТF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FХa составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 12,5 нМ антитела к ТF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FХa составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 12,5 нМ антитела к ТF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

[00289] В некоторых вариантах осуществления % FХa в присутствии 100 нМ антитела к ТF, указанный в **Таблице 8**, выбирают из около 89%, около 96%, около 116%, около 108%, около 117%, около 105%, около 112%, около 106%, около 103%, около 111%, около 98% и около 101% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % FХa составляет от около 89% до около 117%. В некоторых вариантах осуществления такой % FХa составляет около 89% или более

[00290] В некоторых вариантах осуществления % FХa в присутствии 50 нМ антитела к ТF, указанный в **Таблице 8**, выбирают из около 94%, около 93%, около 78%, около 102%, около 99%, около 104%, около 105%, около 108%, около 107%, около 97% и около 106% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % FХa составляет от около 78% до около 108%. В некоторых вариантах осуществления такой % FХa составляет около 78% или более

[00291] В некоторых вариантах осуществления % FХa в присутствии 25 нМ антитела к ТF, указанный в **Таблице 8**, выбирают из около 81%, около 89%, около 85%, около 109%, около 96%, около 97%, около 108%, около 104%, около 103%, около 112% и около 89% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % FХa составляет от около 81% до около 112%. В

некоторых вариантах осуществления такой % FХa составляет около 81% или более

[00292] В некоторых вариантах осуществления % FХa в присутствии 12,5 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 8**, выбирают из около 87%, около 89%, около 82%, около 99%, около 101%, около 98%, около 113%, около 106%, около 115%, около 110%, около 120%, около 85% и около 108% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % FХa составляет от около 82% до около 120%. В некоторых вариантах осуществления такой % FХa составляет около 82% или более

2.3.4. Связывание FVIIa в присутствии антител к TF

[00293] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, связывают TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека. В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa человека.

[00294] В некоторых вариантах осуществления процент связывания FVIIa (% FVIIa) составляет по меньшей мере 75% в присутствии не менее 250 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 250 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 85% в присутствии не менее 250 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 250 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 250 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

[00295] В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 75% в присутствии не менее 83 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 83 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 85% в присутствии не менее 83 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 83 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 83 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

[00296] В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 75% в присутствии не менее 28 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по

меньшей мере 80% в присутствии не менее 28 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 85% в присутствии не менее 28 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 28 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 28 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

[00297] В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 75% в присутствии не менее 9,25 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 80% в присутствии не менее 9,25 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 85% в присутствии не менее 9,25 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 90% в присутствии не менее 9,25 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления % FVIIa составляет по меньшей мере 95% в присутствии не менее 9,25 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

[00298] В некоторых вариантах осуществления % FVIIa в присутствии 250 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 9**, выбирают из около 98%, около 87%, около 80%, около 92%, около 95%, около 89%, около 91%, около 97%, около 94%, около 101% и около 96% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % FVIIa составляет от около 80% до около 101%. В некоторых вариантах осуществления такой % FVIIa составляет около 80% или более

[00299] В некоторых вариантах осуществления % FVIIa в присутствии 83 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 9**, выбирают из около 97%, около 88%, около 77%, около 93%, около 94%, около 91%, около 98%, около 100% и около 92% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % FVIIa составляет от около 77% до около 100%. В некоторых вариантах осуществления такой % FVIIa составляет около 77% или более

[00300] В некоторых вариантах осуществления % FVIIa в присутствии 28 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 9**, выбирают из около 101%, около 87%, около 79%, около 96%, около 93%, около 95%, около 98%, около 100%, около 102%, около 99%, около 92% и около 91% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % FVIIa составляет от около 79% до около 102%. В некоторых вариантах осуществления такой % FVIIa составляет около 79% или более

[00301] В некоторых вариантах осуществления % FVIIa в присутствии 9,25 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 9**, выбирают из около 100%, около 90%, около 76%, около 97%, около 93%, около 99%, около 98%, около 102%, около 101% и около 95% по

сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % FVIIa составляет от около 76% до около 102%. В некоторых вариантах осуществления такой % FVIIa составляет около 76% или более

2.3.5. FVIIa-зависимая передача сигналов TF в присутствии антител к TF

[00302] В некоторых вариантах осуществления, антитела, предложенные в данном документе, ингибируют FVIIa-зависимую передачу сигналов TF. В некоторых вариантах осуществления ингибирование FVIIa-зависимой передачи сигналов TF измеряют по снижению IL8. В некоторых вариантах осуществления ингибирование FVIIa-зависимой передачи сигналов TF измеряют по снижению GM-CSF.

[00303] В некоторых вариантах осуществления концентрация интерлейкина 8 (конц. ИЛ 8) снижается на по меньшей мере 70% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления конц. ИЛ 8 снижается на по меньшей мере 80% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления конц. ИЛ 8 снижается на по меньшей мере 90% в присутствии не менее 100 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

[00304] В некоторых вариантах осуществления конц. ИЛ 8 снижается на по меньшей мере 70% в присутствии не менее 40 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления конц. ИЛ 8 снижается на по меньшей мере 80% в присутствии не менее 40 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления конц. ИЛ 8 снижается на по меньшей мере 90% в присутствии не менее 40 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

[00305] В некоторых вариантах осуществления конц. ИЛ 8 снижается на по меньшей мере 60% в присутствии не менее 16 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления конц. ИЛ 8 снижается на по меньшей мере 70% в присутствии не менее 16 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления конц. ИЛ 8 снижается на по меньшей мере 80% в присутствии не менее 16 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления конц. ИЛ 8 снижается на по меньшей мере 90% в присутствии не менее 16 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

[00306] В некоторых вариантах осуществления конц. ИЛ 8 снижается на по меньшей мере 50% в присутствии не менее 6,4 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления конц. ИЛ 8 снижается на по меньшей мере 60% в присутствии не менее 6,4 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления конц. ИЛ 8 снижается на по меньшей мере 70% в присутствии не менее 6,4 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых

мере 90% в присутствии не менее 6,4 нМ антитела к TF по сравнению с контрольными условиями без антитела.

[00311] В некоторых вариантах осуществления процент интерлейкина 8 (% IL-8) в присутствии 100 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 10**, выбирают из около 2%, около 9%, около 8%, около 6%, около 13%, около 1%, около 3%, около 4% и около 5% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % IL-8 составляет от около 1% до около 13%. В некоторых вариантах осуществления такой % IL-8 составляет около 13% или менее

[00312] В некоторых вариантах осуществления % IL-8 в присутствии 40 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 10**, выбирают из около 2%, около 8%, около 7%, около 10%, около 14%, около 4%, около 5% и около 6% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % IL-8 составляет от около 2% до около 14%. В некоторых вариантах осуществления такой % IL-8 составляет около 14% или менее

[00313] В некоторых вариантах осуществления % IL-8 в присутствии 16 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 10**, выбирают из около 2%, около 3%, около 10%, около 8%, около 7%, около 16%, около 9%, около 15%, около 5% и около 6% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % IL-8 составляет от около 2% до около 16%. В некоторых вариантах осуществления такой % IL-8 составляет около 16% или менее

[00314] В некоторых вариантах осуществления % IL-8 в присутствии 6,4 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 10**, выбирают из около 3%, около 4%, около 11%, около 9%, около 14%, около 22%, около 12%, около 6%, около 5%, около 15%, около 21% и около 8% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % IL-8 составляет от около 3% до около 22%. В некоторых вариантах осуществления такой % IL-8 составляет около 22% или менее

[00315] В некоторых вариантах осуществления процент колониестимулирующего фактора гранулоцитов-макрофагов (% GM-CSF) в присутствии 100 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 11**, выбирают из около 6%, около 7%, около 22%, около 20%, около 12%, около 19%, около 17%, около 25%, около 5%, около 14%, около 11% и около 10% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет от около 5% до около 25%. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет около 25% или менее

[00316] В некоторых вариантах осуществления % GM-CSF в присутствии 40 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 11**, выбирают из около 6%, около 7%, около 19%, около 15%, около 18%, около 16%, около 26%, около 5%, около 13%, около 11% и около 10% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет от около 5% до около 26%. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет около 26% или менее

[00317] В некоторых вариантах осуществления % GM-CSF в присутствии 16 нМ

антитела к TF, указанный в **Таблице 11**, выбирают из около 6%, около 7%, около 22%, около 19%, около 14%, около 32%, около 17%, около 26%, около 5%, около 12%, около 13%, около 9%, около 11% и около 15% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет от около 5% до около 32%. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет около 32% или менее

[00318] В некоторых вариантах осуществления % GM-CSF в присутствии 6,4 нМ антитела к TF, указанный в **Таблице 11**, выбирают из около 8%, около 9%, около 24%, около 20%, около 18%, около 39%, около 34%, около 15%, около 21%, около 16%, около 17% и около 10% по сравнению с контрольными условиями без антитела. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет от около 8% до около 39%. В некоторых вариантах осуществления такой % GM-CSF составляет около 39% или менее

2.3.6. Уменьшение размера поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV)

[00319] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, уменьшают размер поражения в модели хориоидальной неоваскуляризации свиней (CNV). В некоторых вариантах осуществления уменьшение размера поражения измеряют с помощью флуоресцентной ангиографии (ФА).

[00320] В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 5% через 7 суток после введения антитела к TF. В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 10% через 7 суток после введения антитела к TF. В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 20% через 7 суток после введения антитела к TF. В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 40% через 7 суток после введения антитела к TF. В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 60% через 7 суток после введения антитела к TF.

[00321] В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 10% через 21 суток после введения антитела к TF. В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 20% через 21 суток после введения антитела к TF. В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 40% через 21 суток после введения антитела к TF. В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 60% через 21 суток после введения антитела к TF. В некоторых вариантах осуществления размер поражения в модели CNV свиньи уменьшается на по меньшей мере 80% через 21 суток после введения антитела к TF.

2.4. Зародышевые линии

[00322] Предложенные в данном документе антитела могут содержать любые

некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело связывает три антигена. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело связывает четыре антигена. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело связывает пять антигенов.

[00330] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело, предложенное в данном документе, связывает более одного эпитопа на антигене TF. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело связывает два эпитопа на антигене TF. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело связывает три эпитопа на антигене TF.

[00331] Многие конструкции мультиспецифичных антител известны в данной области техники, и представленные в данном документе антитела могут быть предоставлены в форме любой подходящей мультиспецифичной подходящей конструкции.

[00332] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает иммуноглобулин, содержащий по меньшей мере две различные переменные области тяжелой цепи, каждая из которых спарена с общей переменной областью легкой цепи (т.е. «антитело с общей легкой цепью»). Общая переменная область легкой цепи образует отдельный антигенсвязывающий домен с каждой из двух различных переменных областей тяжелой цепи. См. Merchant et al., *Nature Biotechnol.*, 1998, 16:677-681, включенную посредством ссылки в полном объеме.

[00333] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает иммуноглобулин, содержащий антитело или его фрагмент, присоединенный к одному или более N- или C-концам тяжелой или легкой цепей такого иммуноглобулина. См. Coloma and Morrison, *Nature Biotechnol.*, 1997, 15:159-163, включенную посредством ссылки в полном объеме. В некоторых аспектах такое антитело включает четырехвалентное биспецифичное антитело.

[00334] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает гибридный иммуноглобулин, содержащий по меньшей мере две различные переменные области тяжелой цепи и по меньшей мере две различные переменные области легкой цепи. См. Milstein and Cuello, *Nature*, 1983, 305:537-540; и Staerz and Bevan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83:1453-1457; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

[00335] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело содержит цепи иммуноглобулина с изменениями, снижающими образование побочных продуктов, не обладающих мультиспецифичностью. В некоторых аспектах антитела содержат одну или более модификаций типа «выступы в отверстия», как описано в патенте США № № 5731168, включенном в полном объеме посредством ссылки.

[00336] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело содержит цепи иммуноглобулина с одной или более электростатическими модификациями, способствующими сборке гетеро-мультимеров Fc. См. WO 2009/089004,

включенную в полном объеме посредством ссылки.

[00337] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело содержит биспецифичную одноцепочечную молекулу. См. Traunecker et al., *EMBO J.*, 1991, 10:3655-3659; и Gruber et al., *J. Immunol.*, 1994, 152:5368-5374; каждая из которых полностью включена в данный документ посредством ссылки.

[00338] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело содержит переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, соединенные полипептидным линкером, причем длина линкера выбрана так, чтобы способствовать сборке мультиспецифичных антител с желаемой мультиспецифичностью. Например, моноспецифичные scFv обычно образуются, когда переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи соединены полипептидным линкером из более чем 12 аминокислотных остатков. См. патент США № 4946778 и 5132405, каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления уменьшение длины полипептидного линкера до менее 12 аминокислотных остатков предотвращает спаривание переменных доменов тяжелой и легкой цепей на одной и той же полипептидной цепи, тем самым позволяя спаривать переменные домены тяжелой и легкой цепи из одной цепи с комплементарными доменами на другой цепи. Таким образом, полученные антитела обладают мультиспецифичностью, причем специфичность каждого сайта связывания вносится более чем одной полипептидной цепью. Полипептидные цепи, содержащие переменные домены тяжелой и легкой цепей, которые соединены линкерами от 3 до 12 аминокислотных остатков, образуют преимущественно димеры (называемые диателами). С линкерами между 0 и 2 аминокислотными остатками предпочтительны тримеры (называемые триателами) и тетрамеры (называемые тетрателами). Однако точный тип олигомеризации, по-видимому, зависит от состава аминокислотных остатков и порядка переменного домена в каждой полипептидной цепи (например, V_H-линкер-V_L по сравнению с V_L-линкер-V_H), помимо длины линкера. Специалист может выбрать подходящую длину линкера на основе желаемой мультиспецифичности.

[00339] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает диатело. См. Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90:6444-6448 включенной в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает триатело. См. Todorovska et al., *J. Immunol. Methods*, 2001, 248:47-66, включенной в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает тетратело. См. id., включенную в полном объеме посредством ссылки.

[00340] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает триспецифичное производное F(ab')₃. См. Tutt et al. *J. Immunol.*, 1991, 147:60-69, включенной в полном объеме посредством ссылки.

[00341] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает перекрестно-связанное антитело. См. патент США № 4676980; Brennan et al.,

Science, 1985, 229:81-83; Staerz, et al. Nature, 1985, 314:628-631; и EP 0453082; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

[00342] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело содержит антигенсвязывающие домены, собранные лейциновыми застёжками. См. Kostelny et al., J. Immunol., 1992, 148:1547-1553, включенную посредством ссылки в полном объеме.

[00343] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело содержит домены комплементарного белка. В некоторых аспектах комплементарные белковые домены содержат заякоренный домен (AD) и домен димеризации и стыковки (DDD). В некоторых вариантах осуществления AD и DDD связываются друг с другом и, таким образом, обеспечивают сборку мультиспецифичных структур антител с помощью подхода «закрепить и заблокировать» (DNL). Могут быть собраны антитела со многими специфичностями, включая биспецифичные антитела, триспецифичные антитела, тетраспецифичные антитела, пентаспецифичные антитела и гексаспецифичные антитела. Мультиспецифичные антитела, содержащие комплементарные белковые домены, описаны, например, в патентах США № № 7521056; 7550143; 7534866; и 7527787; каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[00344] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает антитело Fab двойного действия (DAF), как описано в патентной публикации США № 2008/0069820, включенной в полном объеме посредством ссылки.

[00345] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает антитело, образованное восстановлением двух родительских молекул с последующим смешением двух исходных молекул и повторным окислением для сборки гибридной структуры. См. Carlring et al., PLoS One, 2011, 6:e22533, включенную посредством ссылки в полном объеме.

[00346] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает DVD-IgTM. DVD-IgTM представляет собой иммуноглобулин с двойным переменным доменом, который может связываться с двумя или более антигенами. DVD-IgTM описаны в патенте США № № 7612181, включенном в полном объеме посредством ссылки.

[00347] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает DARTTM. DARTTM описаны в Moore et al., Blood, 2011, 117:454-451, включенном в данный документ в качестве ссылки во всей своей полноте.

[00348] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает DuoBody[®]. DuoBodies[®] описаны в Labrijn et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2013, 110:5145-5150; Gramer et al., mAbs, 2013, 5:962-972; и Labrijn et al., Nature Protocols, 2014, 9:2450-2463; каждый из которых полностью включен посредством ссылки.

[00349] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичные антитела содержат фрагмент антитела, присоединенный к другому антителу или фрагменту. Присоединение может быть ковалентным или нековалентным. Когда присоединение

является ковалентным, оно может быть в форме слитого белка или через химический линкер. Иллюстративные примеры мультиспецифичных антител, содержащих фрагменты антител, присоединенные к другим антителам, включают четырехвалентные биспецифичные антитела, в которых scFv слит с С-концом C_{H3} от IgG. См. Coloma and Morrison, *Nature Biotechnol.*, 1997, 15:159-163. Другие примеры включают антитела, в которых молекула Fab присоединена к константной области иммуноглобулина. См. Miler et al., *J. Immunol.*, 2003, 170:4854-4861, включенную посредством ссылки в полном объеме. Может быть использован любой подходящий фрагмент, включая любой из фрагментов, описанных в данном документе или известных в данной области техники.

[00350] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает CovX-Body. CovX-тела описаны, например, в Doppalapudi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, 107:22611-22616, включенной в полном объеме посредством ссылки.

[00351] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает антитело Fcab, в котором один или более антигенсвязывающих доменов введены в область Fc. Антитела Fcab описаны в Wozniak-Knopp et al., *Protein Eng. Des. Sel.*, 2010, 23:289-297, включенную в полном объеме посредством ссылки.

[00352] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает антитело TandAb[®]. Антитела TandAb[®] описаны в Kipriyanov et al., *J. Mol. Biol.*, 1999, 293:41-56 и Zhukovsky et al., *Blood*, 2013, 122:5116, каждая из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

[00353] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает тандемные Fab. Тандемные Fab описаны в WO 2015/103072, включенной в полном объеме посредством ссылки.

[00354] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное антитело включает Zybody[™]. Zybodyes[™] описаны в LaFleur et al., *mAbs*, 2013, 5:208-218, которая полностью включена в данный документ в качестве ссылки.

2.6. Варианты гликозилирования

[00355] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, может быть изменено для увеличения, уменьшения или устранения степени его гликозилирования. Гликозилирование полипептидов обычно либо является «N-связанным», либо «О-связанным».

[00356] «N-связанное» гликозилирование относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагинового остатка. Трипептидные последовательности аспарагин-Х-серин и аспарагин-Х-треонин, где Х представляет собой любую аминокислоту, кроме пролина, являются последовательностями распознавания для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования.

[00357] О-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксикамнокислоте, чаще

всего серину или треонину, хотя также могут быть использованы 5-гидроксипролин или 5-гидроксилизин.

[00358] Добавление или удаление сайтов N-связанного гликозилирования в антитело, представленное в данном документе, или из него, может быть выполнено путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, что создается или удаляется одна или более из описанных выше трипептидных последовательностей. Добавление или удаление сайтов O-связанного гликозилирования может осуществляться путем добавления, делеции или замены одного или более остатков серина или треонина в или к (в зависимости от случая) последовательности антитела.

[00359] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит мотив гликозилирования, который отличается от встречающегося в природе антитела. Любой подходящий природный мотив гликозилирования может быть модифицирован в антителах, предложенных в данном документе. Структурные свойства и свойства гликозилирования иммуноглобулинов, например, известны в данной области техники и собраны, например, в Schroeder and Cavacini, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010, 125:S41-52, полностью включена в данный документ в качестве ссылки.

[00360] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит область Fc IgG1 с модификацией олигосахарида, присоединенного к аспарагину 297 (Asn 297). Встречающиеся в природе антитела IgG1, продуцируемые клетками млекопитающих, как правило, содержат разветвленный, биантеннальный олигосахарид, который в общем случае присоединен посредством N-связи к Asn 297 домена C_{H2} Fc-области. См. Wright et al., *TIBTECH*, 1997, 15:26-32, включенную в данный документ в качестве ссылки во всей ее полноте. Олигосахарид, присоединенный к Asn 297 может содержать различные углеводы, например, маннозу, N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), галактозу и сиаловую кислоту, а также фукозу, присоединенную к GlcNAc в «стебле» биантеннальной олигосахаридной структуры.

[00361] В некоторых вариантах осуществления олигосахарид, присоединенный к Asn 297, модифицирован для создания антител с измененным АЗКЦ. В некоторых вариантах осуществления олигосахарид изменен для улучшения АЗКЦ. В некоторых вариантах осуществления олигосахарид изменен для уменьшения АЗКЦ.

[00362] В некоторых аспектах предложенное в данном документе антитело содержит домен IgG1 с пониженным содержанием фукозы в положении Asn 297 по сравнению с природным доменом IgG1. Известно, что такие домены Fc улучшают АЗКЦ. См. Shields et al., *J. Biol. Chem.*, 2002, 277:26733-26740, полностью включенную в данный документ в качестве ссылки. В некоторых аспектах такие антитела не содержат фукозу в положении Asn 297. Количество фукозы можно определить с использованием любого подходящего метода, например, как описано в WO 2008/077546, включенную посредством ссылки в полном объеме.

[00363] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, включает половинный олигосахарид, такой как двухантенный олигосахарид,

присоединенный к области Fc антитела, которая разделена пополам GlcNAc. Такие варианты антител могут иметь пониженное фукозилирование и/или улучшенную функцию АЗКЦ. Примеры таких вариантов антител описаны, например, в WO 2003/011878; патенте США № 6602684; и патентной публикации США № 2005/0123546; каждая из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки.

[00364] Другие иллюстративные варианты гликозилирования, которые могут быть включены в представленные в данном документе антитела, описаны, например, в патентных публикациях США № 2003/0157108, 2004/0093621, 2003/0157108, 2003/0115614, 2002/0164328, 2004/0093621, 2004/0132140, 2004/0110704, 2004/0110282, 2004/0109865; международных патентных публикациях №№ 2000/61739, 2001/29246, 2003/085119, 2003/084570, 2005/035586, 2005/035778; 2005/053742, 2002/031140; Okazaki et al., J. Mol. Biol., 2004, 336:1239-1249; и Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng., 2004, 87: 614-622; каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки.

[00365] В некоторых вариантах осуществления антитела, представленное в данном документе, содержит область Fc с по меньшей мере одним остатком галактозы в олигосахариде, присоединенным к области Fc. Такие варианты антител могут иметь улучшенную функцию КЗЦ. Примеры таких вариантов антител описаны, например, в WO 1997/30087; WO 1998/58964 и WO 1999/22764, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

[00366] Примеры клеточных линий, способных продуцировать дефукозилированные антитела, включают клетки Lec13 CHO, у которых отсутствует фукозилирование белка (см. Ripka et al., Arch. Biochem. Biophys., 1986, 249:533-545; публикацию патента США № 2003/0157108; WO 2004/056312; каждая из которых полностью включена посредством ссылки), и линии клеток с нокаутом, такой как ген альфа-1,6-фукозилтрансферазы, или клетки CHO с нокаутом FUT8 (см. Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng., 2004, 87: 614-622; Kanda et al., Biotechnol. Bioeng., 2006, 94:680-688 и WO 2003/085107; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки).

[00367] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенное в данном документе, представляет собой агликозилированное антитело. Агликозилированное антитело можно получить с использованием любого метода, известного в данной области техники или описанного в данном документе. В некоторых аспектах агликозилированное антитело получают путем модификации антитела для удаления всех сайтов гликозилирования. В некоторых аспектах сайты гликозилирования удаляются только из области Fc антитела. В некоторых аспектах агликозилированное антитело продуцируется путем экспрессии антитела в организме, который не способен к гликозилированию, например, *E. coli*, или путем экспрессии антитела в бесклеточной реакционной смеси.

[00368] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенное в данном документе, имеет константную область с пониженной эффекторной функцией по сравнению с нативным антителом IgG1. В некоторых вариантах осуществления аффинность константной области Fc предложенного в данном документе антитела к

рецептору Fc меньше, чем аффинность нативной константной области IgG1 к такому рецептору Fc.

2.7. Варианты аминокислотных последовательностей области Fc

[00369] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит область Fc с одной или более аминокислотными заменами, вставками или делециями по сравнению с областью Fc природного происхождения. В некоторых аспектах такие замены, вставки или делеции дают антитела с измененной стабильностью, гликозилированием или другими характеристиками. В некоторых аспектах такие замены, вставки или делеции дают агликозилированные антитела.

[00370] В некоторых аспектах область Fc антитела, предложенного в данном документе, модифицирована для получения антитела с измененной аффинностью к рецептору Fc или антитела, которое является более иммунологически инертным. В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе варианты антител обладают некоторыми, но не всеми эффекторными функциями. Такие антитела могут быть полезны, например, когда период полужизни антитела важен *in vivo*, но когда определенные эффекторные функции (например, активация комплемента и АЗКЦ) являются ненужными или вредными.

[00371] В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела, предложенного в данном документе, представляет собой область Fc IgG4 человека, содержащую одну или более мутаций S228P и L235E, стабилизирующих шарнир. См. Aalberse et al., *Immunology*, 2002, 105:9-19, включенную посредством ссылки в полный объем. В некоторых вариантах осуществления область Fc IgG4 содержит одну или более из следующих мутаций: E233P, F234V и L235A. См. Armour et al., *Mol. Immunol.*, 2003, 40:585-593, включенную в полный объем посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления область Fc IgG4 содержит делецию в положении G236.

[00372] В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела, предложенного в данном документе, представляет собой область Fc IgG1 человека, содержащую одну или более мутаций для снижения связывания рецептора Fc. В некоторых аспектах одна или более мутаций находятся в остатках, выбранных из S228 (например, S228A), L234 (например, L234A), L235 (например, L235A), D265 (например, D265A) и N297 (например, N297A). В некоторых аспектах антитело содержит мутацию PVA236. PVA236 означает, что аминокислотная последовательность ELLG (SEQ ID NO: 928), из аминокислотного положения 233-236 IgG1 или EFLG (SEQ ID NO: 929) IgG4, заменяется на PVA. См. патент США № 9150641, включенном в данный документ в полный объем посредством ссылки.

[00373] В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела, предложенного в данном документе, модифицирована, как описано в Armour et al., *Eur. J. Immunol.*, 1999, 29:2613-2624; WO 1999/058572; и/или патентной публикации Великобритании № 98099518; каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки.

[00374] В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела, предложенного в данном документе, представляет собой область Fc IgG2 человека, содержащую одну или более мутаций A330S и P331S.

[00375] В некоторых вариантах осуществления область Fc антитела, предложенного в данном документе, имеет аминокислотную замену в одном или более положениях, выбранных из 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329. См. патент США № 6737056, включенном в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Такие мутанты Fc включают мутанты Fc с заменами в двух или более положениях аминокислот 265, 269, 270, 297 и 327, включая так называемый мутант Fc «DANA» с заменой остатков 265 и 297 на аланин. См. патент США № 7332581, включенном в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аланин в аминокислотном положении 265. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит аланин в аминокислотном положении 297.

[00376] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит область Fc с одной или более аминокислотными заменами, которые улучшают АЗКЦ, например заменой в одном или более положениях 298, 333 и 334 области Fc. В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело содержит область Fc с одной или более аминокислотными заменами в положениях 239, 332 и 330, что приводит к усилению эффекторной функции, как описано в Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2006,103: 4005-4010, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

[00377] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит одно или более изменений, которые улучшают или уменьшают связывание C1q и/или КЗЦ. См. патент США № 6194551; WO 99/51642; и Idusogie et al., J. Immunol., 2000, 164:4178-4184; каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки.

[00378] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит одно или более изменений для увеличения периода полужизни. Антитела с увеличенным периодом полужизни и улучшенным связыванием с неонатальным рецептором Fc (FcRn) описаны, например, в Hinton et al., J. Immunol., 2006, 176:346-356 и публикации патента США № 2005/0014934; каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки. Такие варианты Fc включают варианты с заменами в одном или более остатках области Fc: 238, 250, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 314, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424, 428, и 434 IgG.

[00379] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, содержит один или более вариантов области Fc, как описано в патентах США № 7371826, 5648260 и 5624821; Duncan and Winter, Nature, 1988, 322:738-740; и WO 94/29351; каждый из которых включен в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

2.8. Пироглутамат

[00380] Как известно в данной области техники, как глутамат (E), так и глутамин (Q) на N-концах рекомбинантных белков могут спонтанно циклизироваться *in vitro* и *in vivo* с образованием пироглутамата (pE). См., Liu et al., J. Biol. Chem., 2011, 286:11211-11217, полностью включенную в данный документ в качестве ссылки.

[00381] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложены антитела, содержащие полипептидную последовательность, имеющую остаток pE в N-концевом положении. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложены антитела, содержащие полипептидную последовательность, в которой N-концевой остаток преобразован из Q в pE. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложены антитела, содержащие полипептидную последовательность, в которой N-концевой остаток преобразован из E в pE.

2.9. Варианты антител с модифицированным цистеином

[00382] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложены антитела с модифицированным цистеином, также известные как «thioMAb», в которых один или более остатков антитела заменены остатками цистеина. В конкретных вариантах осуществления замещенные остатки встречаются на доступных для растворителя участках антитела. Путем замены таких остатков цистеином реактивные тиоловые группы вводятся в доступные для растворителя участки антитела и могут использоваться для конъюгирования антитела с другими фрагментами, такими как фрагменты лекарственного средства или фрагменты линкер-лекарственное средство, например, для создания иммуноконъюгата.

[00383] В некоторых вариантах осуществления любой один или более из следующих остатков могут быть заменены цистеином: V205 легкой цепи; A118 области Fc тяжелой цепи; и S400 Fc-области тяжелой цепи. Сконструированные антитела с цистеином могут быть получены, как описано, например, в патенте США № № 7521541, который полностью включен в данный документ посредством ссылки.

3. Конъюгаты антител к TF-лекарственное средство

[00384] В данном документе предложены конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC), содержащие антитело, которое специфически связывается с TF, и цитотоксический агент. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент непосредственно связан с антителом к TF. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент опосредованно связан с антителом к TF.

[00385] В некоторых вариантах осуществления ADC дополнительно содержат линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер связывает антитело к TF с цитотоксическим агентом.

[00386] В некоторых вариантах осуществления ADC, представленные в данном документе, имеют соотношение лекарственное средство-антитело (DAR), равное 1. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенный в данном документе, имеет DAR 2. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенный в данном документе, имеет DAR 3. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенный в данном

документе, имеет DAR 4. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенный в данном документе, имеет DAR 5. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенные в данном документе, имеют DAR 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 2-3, 2-4, 2-5, 3-4, 3-5, 4-5, 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенный в данном документе, имеет DAR более чем 5. В некоторых вариантах осуществления DAR измеряется с помощью УФ/видимой спектроскопии, хроматографии гидрофобного взаимодействия (HIC) и/или разделения жидкостной хроматографией с обращенной фазой с детектированием по времени пролета и масс-характеризацией (ОФ-УВЭЖХ/масс-спектрометрия).

4. Способы получения антител к TF

4.1. Получение антигена TF

[00387] Антиген TF, используемый для выделения предложенных в данном документе антител, может быть интактным TF или фрагментом TF. Антиген TF может быть, например, в форме выделенного белка или белка, экспрессированного на поверхности клетки.

[00388] В некоторых вариантах осуществления антиген TF представляет собой не встречающийся в природе вариант TF, такой как белок TF, имеющий аминокислотную последовательность или посттрансляционную модификацию, которая не встречается в природе.

[00389] В некоторых вариантах осуществления антиген TF усекается путем удаления, например, внутриклеточных или трансмембранных последовательностей или сигнальных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления антиген TF слит на своем С-конце с доменом Fc IgG1 человека или полигистидиновой меткой.

4.2. Способы получения моноклональных антител

[00390] Моноклональные антитела могут быть получены, например, с использованием метода гибридомы, впервые описанного Kohler et al., Nature, 1975, 256:495-497 (включенного в полном объеме посредством ссылки) и/или методами рекомбинантной ДНК (см., например, патент США № 4816567, включенный посредством ссылки в полном объеме). Моноклональные антитела также могут быть получены, например, с использованием библиотек фагового дисплея (см., например, патент США № 8258082, который полностью включен посредством ссылки) или, альтернативно, с использованием библиотек на основе дрожжей (см., например, патент США № 8691730, что полностью включено в качестве ссылки).

[00391] В гибридном способе мышь или другое подходящее животное-хозяина, иммунизируют, чтобы вызвать выработку лимфоцитов, которые вырабатывают или способны вырабатывать антитела, которые будут специфически связываться с белком, используемым для иммунизации. В альтернативном варианте лимфоциты можно иммунизировать *in vitro*. Лимфоциты затем сливают с клетками миеломы, используя подходящий агент для слияния, такой как полиэтиленгликоль, для получения гибридомной клетки. См., Goding J.W., Monoclonal Antibodies: Principles and Practice 3rd

ed. (1986) Academic Press, San Diego, CA, включенную посредством ссылки в полном объеме.

[00392] Гибридомные клетки высевают и выращивают в подходящей культуральной среде, которая, содержит одно или более веществ, которые ингибируют рост или выживаемость неслитых, родительских клеток миеломы. Например, если в родительских клетках миеломы отсутствует фермент гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза (HGPRT или HPRT), культуральная среда для гибридом, как правило, содержит гипоксантин, аминоптерин и тимидин (среда HAT), которые препятствуют росту клеток с дефицитом HGPRT.

[00393] Пригодными для использования миеломными клетками являются те, которые эффективно сливаются, поддерживают стабильную продукцию антител на высоком уровне выбранными антителопродуцирующими клетками и являются чувствительными к условиям среды, таким как присутствие или отсутствие среды HAT. Среди них предпочтительными линиями миеломных клеток являются линии миеломы мышей, такие как линии, полученные из опухолей мышей MOP-21 и MC-11 (доступные в Центре распределения клеток Института Солка, Сан-Диего, штат Калифорния), и SP-2 или X63-Ag8. -653 клеток (доступны из Американской коллекции типовых культур, Роквилл, штат Мэриленд). Линии клеток миеломы человека и гетеромиеломы мышей и человека также были описаны как пригодные для получения человеческих моноклональных антител. См., например, Kozbor, J. Immunol., 1984, 133:3001, включенную посредством ссылки в полном объеме.

[00394] После идентификации клеток гибридомы, которые вырабатывают антитела с необходимой специфичностью, аффинностью и/или биологической активностью, клоны можно субклонировать с помощью процедур предельного разведения и выращивать стандартными способами. См. Goding, *выше*. Подходящие для этих целей культуральные среды включают, например среду, D-MEM или RPMI-1640. Кроме того, гибридомные клетки можно выращивать *in vivo* как асцитные опухоли у животных.

[00395] ДНК, кодирующую моноклональные антитела, могут быть легко выделены и секвенированы с помощью традиционных процедур (например, используя олигонуклеотидные зонды, способные специфически связываться с генами, кодирующими тяжелую и легкую цепи моноклональных антител). Таким образом, гибридомные клетки могут служить полезным источником ДНК-кодирующих антител с желаемыми свойствами. После выделения ДНК можно помещать в экспрессионные векторы, которые затем трансфицируют в клетки-хозяев, такие как бактерии (например, *E. coli*), дрожжи (например, *Saccharomyces* или *Pichia* sp.), клетки обезьян COS, клетки яичника китайского хомяка (CHO) или клетки миеломы, которые в ином случае не вырабатывают антитела, чтобы осуществить синтез моноклональных антител.

4.3. Способы получения химерных антител

[00396] Иллюстративные способы получения химерных антител описаны, например, в патенте США № № 4816567; и Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1984,

81:6851-6855; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело создано с использованием рекомбинантной методики и содержит нечеловеческую вариабельную область (например, вариабельную область, полученную от мыши, крысы, хомяка, кролика или отличного от человека примата, такого как обезьяна) с константной областью человека.

4.4. Способы получения гуманизированных антител

[00397] Гуманизированные антитела могут быть получены путем замены большей части или всех структурных частей нечеловеческого моноклонального антитела соответствующими последовательностями человеческого антитела. Следовательно, создается гибридная молекула, в которой только антигенспецифическая переменная или CDR состоит из нечеловеческой последовательности. Способы получения гуманизированных антител включают методы, описанные, например, в Winter and Milstein, *Nature*, 1991, 349:293-299; Rader et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 1998, 95:8910-8915; Steinberger et al., *J. Biol. Chem.*, 2000, 275:36073-36078; Queen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1989, 86:10029-10033; и патентах США № 5585089, 5693761, 5693762, и 6180370; каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме.

4.5. Способы получения антител человека

[00398] Антитела человека могут быть получены различными методами, известными в данной области техники, например, с использованием трансгенных животных (например, гуманизированных мышей). См., например, Jakobovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1993, 90:2551; Jakobovits et al., *Nature*, 1993, 362:255-258; Bruggermann et al., *Year in Immuno.*, 1993, 7:33; и патенты США № 5591669, 5589369 и 5545807; каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме. Антитела человека также могут быть получены из библиотек фагового дисплея (см., например, Hoogenboom et al., *J. Mol. Biol.*, 1991, 227:381-388; Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 1991, 222:581-597; и патенты США № 5565332 и 5573905, каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме). Антитела человека также могут быть созданы активированными *in vitro* В-клетками (см., например, патенты США № 5567610 и 5229275, каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме). Антитела человека также могут быть получены из библиотек на основе дрожжей (см., например, патент США № 8691730, полностью включенный посредством ссылки в полном объеме).

4.6. Способы получения фрагментов антител

[00399] Предложенные в данном документе фрагменты антител могут быть получены любым подходящим способом, включая иллюстративные способы, описанные в данном документе, или методы, известные в данной области техники. Подходящие методы включают рекомбинантные методы и протеолитическое расщепление целых антител. Иллюстративные методы получения фрагментов антител описаны, например, в Hudson et al., *Nat. Med.*, 2003, 9:129-134, включенном посредством ссылки в полном объеме. Способы получения антител scFv описаны, например, в Plückthun, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag,

New York, pp. 269-315 (1994); WO 93/16185 и патентах США № 5571894 и 5587458, каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме.

4.7. Способы получения альтернативных каркасов

[00400] Предложенные в данном документе альтернативные каркасы могут быть получены любым подходящим способом, включая иллюстративные способы, описанные в данном документе, или методы, известные в данной области техники. Например, способы получения АднектиновTM описаны в Emanuel et al., mAbs, 2011, 3:38-48, включенной посредством ссылки в полном объеме. Способы получения iMab описаны в публикации патента США № 2003/0215914, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения Антикалинов[®] описаны в Vogt и Skerra, Chem. Biochem., 2004, 5:191-199, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения доменов Kunitz описаны в Wagner et al., Biochem. & Biophys. Res. Comm., 1992, 186:118-1145, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения аптамеров тиоредоксинового пептида описаны в Geyer and Brent, Meth. Enzymol., 2000, 328:171-208, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения аффител описаны в Fernandez, Curr. Opinion in Biotech., 2004, 15:364-373, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения DARPin описаны в Zahnd et al., J. Mol. Biol., 2007, 369:1015-1028, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения аффилинов описаны в Ebersbach et al., J. Mol. Biol., 2007, 372:172-185, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения тетранектинов описаны в Graversen et al., J. Biol. Chem., 2000, 275:37390-37396, включенная в полном объеме посредством ссылки. Способы получения авимеров представлены в Silverman et al., Nature Biotech., 2005, 23:1556-1561, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения финомеров описаны в Silacci et al., J. Biol. Chem., 2014, 289:14392-14398, включенная в полном объеме посредством ссылки.

[00401] Дополнительная информация об альтернативных каркасах представлена в Binz et al., Nat. Biotechnol., 2005 23:1257-1268; Skerra, Current Opin. in Biotech., 2007 18:295-304; каждая из которых включена в полном объеме посредством ссылки.

4.8. Способы получения мультиспецифичных антител

[00402] Предложенные в данном документе мультиспецифические антитела могут быть получены любым подходящим способом, включая иллюстративные способы, описанные в данном документе, или методы, известные в данной области техники. Способы получения общих легких цепей антител описаны в Merchant et al., Nature Biotechnol., 1998, 16:677-681, включенной в полном объеме посредством ссылки. Методы получения четырехвалентных биспецифичных антител описаны в Coloma and Morrison, Nature Biotechnol., 1997, 15:159-163, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения гибридных иммуноглобулинов описаны в Milstein and Cuello, Nature, 1983, 305:537-540; и Staerz and Bevan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1986, 83:1453-1457; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Способы получения иммуноглобулинов с модификацией «выступ во впадину» описаны в патенте США №

5731168, включенном в полном объеме посредством ссылки. Способы получения иммуноглобулинов с электростатическими модификациями представлены в WO 2009/089004, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения биспецифичных одноцепочечных антител описаны в Traunecker et al., EMBO J., 1991, 10:3655-3659 и Gruber et al., J. Immunol., 1994, 152:5368-5374; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Способы получения одноцепочечных антител, длина линкера которых может варьироваться, описаны в патентах США № 4946778 и 5132405, каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме. Способы получения диател описаны в Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, 90:6444-6448 включенной в полном объеме посредством ссылки. Методы создания триател и тетрател описаны в Todorovska et al., J. Immunol. Methods, 2001, 248:47-66, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения триспецифических производных F(ab')₃ описаны в Tutt et al. J. Immunol., 1991, 147:60-69, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения поперечно-сшитых антител описаны в патенте США № 4676980; Brennan et al., Science, 1985, 229:81-83; Staerz, et al. Nature, 1985, 314:628-631; и EP 0453082; каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки. Способы создания антигенсвязывающих доменов, собранных лейциновыми застежками-молниями, описаны в Kostelny et al., J. Immunol., 1992, 148:1547-1553, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения антител с использованием подхода DNL описаны в патентах США № 7521056; 7550143; 7534866; и 7527787; каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Способы получения гибридов молекул антител и молекул, не являющихся антителами, описаны в WO 93/08829, включенной в полном объеме посредством ссылки, в качестве примеров таких антител. Способы получения антител DAF описаны в публикации патента США № 2008/0069820, включенном в полном объеме посредством ссылки. Способы получения антител путем восстановления и окисления описаны в Carlring et al., PLoS One, 2011, 6:e22533, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения DVD-IgsTM описаны в патенте США № 7612181, включенном в полном объеме посредством ссылки. Способы получения DARTTM описаны в Moore et al., Blood, 2011, 117:454-451, включенной посредством ссылки в полном объеме. Способы получения DuoТел[®] описаны в Labrijn et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2013, 110:5145-5150; Gramer et al., mAbs, 2013, 5:962-972; и Labrijn et al., Nature Protocols, 2014, 9:2450-2463; каждый из которых полностью включен посредством ссылки. Способы получения антител, содержащих scFv, слитые с С-концом C_{H3} из IgG, описаны в Coloma and Morrison, Nature Biotechnol., 1997, 15:159-163, включенной посредством ссылки в полном объеме. Способы получения антител, в которых молекула Fab присоединена к константной области иммуноглобулина, описаны в Miler et al., J. Immunol., 2003, 170:4854-4861, включенной посредством ссылки в полном объеме. Способы получения CovX-Тел описаны в Doppalapudi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010, 107:22611-22616, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения антител Fcab

описаны в Wozniak-Knopf et al., Protein Eng. Des. Sel., 2010, 23:289-297, включенную в полном объеме посредством ссылки. Способы получения антител TandAb[®] описаны в Kipriyanov et al., J. Mol. Biol., 1999, 293:41-56 и Zhukovsky et al., Blood, 2013, 122:5116, каждая из которых включена в полном объеме посредством ссылки. Способы получения тандемных Fab описаны в WO 2015/103072, включенной в полном объеме посредством ссылки. Способы получения Zybody[™] описаны в LaFleur et al., mAbs, 2013, 5:208-218, включенной в полном объеме посредством ссылки.

4.9. Способы получения вариантов

[00403] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, представляет собой вариант родительского антитела с созревшей аффинностью, который может быть получен, например, с использованием методов созревания аффинности на основе фагового дисплея. Вкратце, один или более остатков CDR могут быть мутированы, и варианты антитела или их части могут располагаться на фаге и подвергаться скринингу на аффинность. Такие изменения могут быть сделаны в «горячих точках» CDR или остатках, кодируемых кодонами, которые подвергаются мутации с высокой частотой в процессе соматического созревания (см. Chowdhury, Methods Mol. Biol., 2008, 207:179-196, включенной в полном объеме посредством ссылки), и/или остатках, которые контактируют с антигеном.

[00404] Для внесения вариативности в полинуклеотидную последовательность (и), кодирующую антитело, можно использовать любой подходящий метод, включая подверженную ошибкам ПЦР, перетасовку цепей и олигонуклеотид-направленный мутагенез, такой как тринуклеотид-направленный мутагенез (TRIM). В некоторых аспектах несколько остатков CDR (например, 4-6 остатков за раз) рандомизированы. Остатки CDR, участвующие в связывании антигена, могут быть специфически идентифицированы, например, с использованием аланинового сканирующего мутагенеза или моделирования. CDR-H3 и CDR-L3, в частности, часто становятся мишенью для мутации.

[00405] Введение разнообразия в вариативные области и/или CDR можно использовать для создания вторичной библиотеки. Затем проводится скрининг вторичной библиотеки для выявления вариантов антител с улучшенной аффинностью. Созревание аффинности путем конструирования и повторного выбора из вторичных библиотек описано, например, в Hoogenboom et al., Methods in Molecular Biology, 2001, 178:1-37, включенной посредством ссылки в полном объеме.

4.10. Векторы, клетки-хозяева и рекомбинантные методы

[00406] Также предложены выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие антитела к TF, векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, и клетки-хозяева, содержащие векторы и нуклеиновые кислоты, а также рекомбинантные методы получения антител.

[00407] Для рекомбинантного получения антитела нуклеиновая кислота(ы), кодирующая его, может быть выделена и вставлена в реплицируемый вектор для дальнейшего клонирования (т.е. амплификации ДНК) или экспрессии. В некоторых

аспектах нуклеиновая кислота может быть получена путем гомологичной рекомбинации, например, как описано в патенте США № 5204244, включенном в качестве ссылки в полном объеме.

[00408] В данной области техники известно много различных векторов. Компоненты вектора обычно включают один или более из следующего: сигнальная последовательность, начало репликации, один или более маркерных генов, энхансерный элемент, промотор и последовательность терминации транскрипции, например, как описано в патенте США № 5534615, включенном в качестве ссылки в полном объеме.

[00409] Ниже приведены иллюстративные примеры подходящих клеток-хозяев. Эти клетки-хозяева не предназначены для ограничения, и любая подходящая клетка-хозяин может быть использована для получения предложенных в данном документе антител.

[00410] Подходящие клетки-хозяева включают любые прокариотические (например, бактериальные), низшие эукариотические (например, дрожжевые) или высшие эукариотические (например, клетки млекопитающих) клетки. Пригодные прокариотические клетки для данной цели включают без ограничения эубактерии, например, грамотрицательные или грамположительные бактерии, такие как *Escherichia* (*E. coli*), *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* (*S. typhimurium*), *Serratia* (*S. marcescans*), *Shigella*, *Bacilli* (*B. subtilis* и *B. licheniformis*), *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*) и *Streptomyces*. Один пригодный хозяин для клонирования *E. coli* представляет собой *E. coli* 294, хотя другие штаммы, такие как *E. coli* B, *E. coli* X1776 и *E. coli* W3110 также подходят.

[00411] В дополнение к прокариотам, эукариотические микроорганизмы, такие как мицелиальные грибы или дрожжи, также являются подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитела к TF. *Saccharomyces cerevisiae* или обычные пекарские дрожжи, представляет собой обычно используемый низший эукариотический микроорганизм-хозяин. Тем не менее, ряд других родов, видов и штаммов доступны и пригодны, например, *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces* (*K. lactis*, *K. fragilis*, *K. bulgaricus*, *K. wickerhamii*, *K. waltii*, *K. drosophilae*, *K. Thermotolerans* и *K. marxianus*), *Yarrowia*, *Pichia pastoris*, *Candida* (*C. albicans*), *Trichoderma reesia*, *Neurospora crassa*, *Schwanniomyces* (*S. occidentalis*), и нитчатые грибы, такие как, например, *Penicillium*, *Tolypocladium* и *Aspergillus* (*A. nidulans* и *A. niger*).

[00412] Подходящие клетки-хозяева млекопитающих включают клетки COS-7, клетки HEK293, клетки почек детенышей хомячка (BHK), яичники китайского хомячка (CHO), клетки сертоли мыши, клетки почек африканских зеленых мартышек (VERO-76) и т.п.

[00413] Клетки-хозяева, используемые для получения антитела к TF по данному изобретению, можно культивировать в различных средах. Коммерчески доступные среды, такие как, например, среда Хэма F10, минимальная поддерживающая среда (MEM), RPMI-1640 и модифицированная Дюльбекоо среда Игла (DMEM), подходят для

культивирования клеток-хозяев. Кроме того, можно использовать любую из сред, описанных в Ham et al., Meth. Enz., 1979, 58:44; Barnes et al., Anal. Biochem., 1980, 102:255; и патентах США № 4767704, 4657866, 4927762, 4560655, и 5122469; или WO 90/03430 и WO 87/00195. Каждый из вышеуказанных источников полностью включен в данный документ посредством ссылки.

[00414] Любая из этих сред может быть при необходимости дополнена гормонами и/или другими факторами роста (такими как инсулин, трансферрин или эпидермальный фактор роста), солями (такими как хлорид натрия, кальций, магний и фосфат), буферами (такими как HEPES), нуклеотидами (такими как аденозин и тимидин), антибиотиками, микроэлементами (определяемые как неорганические соединения, обычно присутствующими в конечных концентрациях в микромолярном диапазоне) и глюкозой или эквивалентными источниками энергии. Любые другие необходимые добавки также могут быть включены в подходящих концентрациях, которые известны специалистам в данной области техники.

[00415] Условия культивирования, такие как температура, pH и т.п., являются теми, которые ранее использовались с клеткой-хозяином, выбранной для экспрессии, и будут очевидны обычному специалисту в данной области техники.

[00416] При использовании рекомбинантных методов антитело можно продуцировать внутриклеточно, в периплазматическом пространстве или непосредственно секретировать в среду. Если антитело продуцируется внутриклеточно, на первом этапе частицы дебриса, будь то клетки-хозяева или лизированные фрагменты, удаляются, например, центрифугированием или ультрафильтрацией. Например, Carter et al. (Bio/Technology, 1992, 10:163-167, включенная посредством ссылки в полном объеме) описывает процедуру выделения антител, которые секретируются в периплазматическое пространство *E. coli*. Вкратце, клеточную пасту размораживают в присутствии ацетата натрия (pH 3,5), EDTA и фенилметилсульфонилфторида (PMSF) в течение около 30 минут. Остатки клеток можно удалить центрифугированием.

[00417] В некоторых вариантах осуществления антитело продуцируют в бесклеточной системе. В некоторых аспектах бесклеточная система представляет собой систему транскрипции и трансляции *in vitro*, как описано в Yin et al., mAbs, 2012, 4:217-225, включенной посредством ссылки в полном объеме. В некоторых аспектах бесклеточная система использует бесклеточный экстракт эукариотической клетки или прокариотической клетки. В некоторых аспектах прокариотическая клетка представляет собой *E. coli*. Бесклеточная экспрессия антитела может быть полезной, например, когда антитело накапливается в клетке в виде нерастворимого агрегата или когда выходы от периплазматической экспрессии низкие.

[00418] Когда антитело секретируется в среду, супернатанты таких экспрессионных систем обычно сначала концентрируют с использованием коммерчески доступного фильтра для концентрации белка, например, установки ультрафильтрации Amicon® или Millipore® Pellicon®. Ингибитор протеазы, такой как PMSF, может быть

включен в любую из вышеупомянутых стадий для ингибирования протеолиза, а антибиотики могут быть включены для предотвращения роста случайных загрязняющих веществ.

[00419] Композиция антител, полученная из клеток, может быть очищена с использованием, например, хроматографии на гидроксилapatите, гель-электрофореза, диализа и аффинной хроматографии, причем аффинная хроматография является особенно полезным методом очистки. Пригодность белка А в качестве аффинного лиганда зависит от вида и изотипа любого домена Fc иммуноглобулина, присутствующего в антителе. Белок А можно использовать для очистки антител, которые содержат тяжелые цепи $\gamma 1$, $\gamma 2$ или $\gamma 4$ человека (Lindmark et al., J. Immunol. Meth., 1983, 62:1-13, включенная в полном объеме посредством ссылки). Белок G полезен для всех изотипов мыши и для $\gamma 3$ человека (Guss et al., EMBO J., 1986, 5:1567-1575, включена посредством ссылки в полном объеме).

[00420] Матрица, к которой присоединен аффинный лиганд, чаще всего представляет собой агарозу, но доступны и другие матрицы. Механически стабильные матрицы, такие как стекло с контролируемыми порами или поли (стиролдивинил) бензол, обеспечивают более высокие скорости потока и более короткое время обработки, чем может быть достигнуто с агарозой. Если антитело содержит домен C_{H3}, смола BakerBond ABX[®] может быть полезна для очистки.

[00421] Также доступны и другие методы очистки белка, такие как фракционирование на ионообменной колонке, осаждение этанолом, обращенно-фазовая ВЭЖХ, хроматография на диоксиде кремния, хроматография на гепарин-сефарозе[®], хроматофокусирование, SDS-PAGE и осаждение сульфатом аммония может применяться специалистом в данной области техники.

[00422] После любой стадии предварительной очистки смесь, содержащая представляющее интерес антитело и примеси, может быть подвергнута хроматографии гидрофобного взаимодействия с низким pH с использованием элюирующего буфера при pH от около 2,5 до около 4,5, обычно проводимая при низких концентрациях соли (например, от около 0 до около 0,25 М соли).

5. Цитотоксические агенты

[00423] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе ADC содержат цитотоксический агент. Цитотоксические агенты могут быть рассмотрены для пациентов с воспалительными заболеваниями (например, аутоиммунными заболеваниями). Предложенные в данном документе цитотоксические агенты включают различные иммуносупрессивные, противоопухолевые или противораковые агенты, известные в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления цитотоксические агенты вызывают разрушение раковых клеток или иммунных клеток.

[00424] Подходящие цитотоксические агенты включают антиангиогенные агенты, проапоптотические агенты, антимиотические агенты, антикиназные агенты, алкилирующие агенты, гормоны, агонисты гормонов, антагонисты гормонов, хемокины, лекарственные препараты, пролекарства, токсины, ферменты, антиметаболиты,

антибиотики, алкалоиды и радиоактивные изотопы.

[00425] В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент включает, по меньшей мере, одно из: калихеамицина, камптотецина, карбоплатина, иринотекана, SN-38, карбоплатина, камптотекана, циклофосфамида, цитарабина, дакарбазина, доцетаксела, дактиномицина, даунорубицина, доксорубицина, доксорубицина, этопозид, идарубицина, топотекана, алкалоида барвинка, майтансиноида, аналога майтансиноида, пирролобензодиазепина, таксоида, дуокармицина, доластатина, ауристатина и их производных. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой монометилауристатин Е (ММАЕ).

[00426] В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой диагностический агент, такой как радиоактивный изотоп, хелатор металлов, фермент, флуоресцентное соединение, биолюминесцентное соединение или хемилюминесцентное соединение.

[00427] В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой улучшенный профиль безопасности цитотоксической полезной нагрузки, например ХМТ-1267 и другие цитотоксические полезные нагрузки, описанные в Trail et al., *Pharmacol Ther*, 2018, 181:126-142.

6. Линкеры

[00428] В некоторых вариантах осуществления предложенные в данном документе ADC содержат линкер. В некоторых вариантах осуществления несвязанный линкер содержит два реактивных конца: реактивные концы конъюгации антитела и реактивные концы конъюгации цитотоксического агента. Реакционноспособный конец линкера для конъюгации антител может быть конъюгирован с антителом через цистеиновую тиольную или лизиновую аминогруппу на антителе, обычно тиол-реактивную группу, такую как двойная связь, уходящая группа, такую как хлор, бром или йод, R-сульфанильную группу или сульфонильную группу или амино-реактивную группу, такую как карбоксильная группа. Конъюгирование с цитотоксическим агентом реактивного конца линкера может быть конъюгировано с цитотоксическим агентом посредством образования амидной связи с основной аминогруппой или карбоксильной группой цитотоксина, обычно с карбоксильной или основной аминогруппой.

[00429] В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой нерасщепляемый линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой расщепляемый линкер. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент высвобождается из ADC в клетке.

[00430] Подходящие линкеры ADC включают лабильные линкеры, кислотолабильные линкеры (например, гидразоновые линкеры), фотолабильные линкеры, заряженные линкеры, дисульфидсодержащие линкеры, чувствительные к пептидазе линкеры (например, пептидные линкеры, содержащие аминокислоты, например, валин и/или цитруллин, такие как цитруллин-валин или фенилаланин-лизин), β -глюкуронид-линкеры (см., например, Graaf et al., *Curr Pharm Des*, 2002, 8:1391-1403), диметилловые

линкеры (см., например, Chari et al., *Cancer Research*, 1992, 52:127-131; патент США № 5208020), тиоэфирные линкеры или гидрофильные линкеры (см., например, Kovtun et al., *Cancer Res.*, 2010, 70:2528-2537). В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент конъюгирован с антителом с использованием линкера валин-цитруллин (vc).

7. Способы получения конъюгатов антитело-лекарственное средство

[00431] Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC) можно создавать, используя ряд бифункциональных агентов для сопряжения белков, таких как BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC, сульфо-SMPB и SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон)бензоат). Например, иммунотоксин ризин может быть получен, как описано в Vitetta et al., *Science*, 1987, 238:1098. Кроме того, ADC могут быть получены с использованием любых подходящих методов, описанных в данной области техники, например, в *Bioconjugate Techniques*, 2nd Ed., G. T. Hermanson, ed., Elsevier, San Francisco, 2008.

[00432] В некоторых вариантах осуществления ADC получают с помощью методов сайт-специфической конъюгации, что приводит к гомогенной загрузке лекарственного средства и позволяет избежать субпопуляций ADC с измененными антигенсвязыванием или фармакокинетикой. В некоторых вариантах осуществления создают «thiomab», содержащие цистеиновые замены в положениях в тяжелой и легкой цепях, которые обеспечивают наличие реактивных тиольных групп, которые не нарушают сворачивание и сборку иммуноглобулина или не меняют связывание антигена (Junutula et al., *J. Immunol. Meth.*, 2008, 332: 41-52; Junutula et al., *Nat. Biotechnol.*, 2008, 26: 925-932.). В некоторых вариантах осуществления в последовательность антитела котрансляционно вставляют селеноцистеин путем перекодировки стоп-кодона UGA от терминации до вставки селеноцистеина, что позволяет осуществлять сайт-специфическую ковалентную конъюгацию в нуклеофильной селенольной группе селеноцистеина в присутствии других природных аминокислот (см., например, Hofer et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008, 105:12451-12456; Hofer et al., *Biochemistry*, 2009, 48(50):12047-12057). В некоторых вариантах осуществления ADC были синтезированы, как описано в Behrens et al., *Mol Pharm*, 2015, 12:3986-98.

8. Анализы

[00433] Для идентификации и характеристики антител к TF и ADC к TF, предложенные в данном документе, можно использовать различные анализы, известные в данной области техники.

8.1. Анализы связывания, конкуренции и картирования эпитопа

[00434] Специфическая антигенсвязывающая активность представленных в данном документе антител может быть оценена любым подходящим методом, включая использование SPR, BLI, RIA и MSD-SET, как описано в другом месте в данном раскрытии. Кроме того, антигенсвязывающая активность может быть оценена с помощью анализов ИФА и вестерн-блоттинга.

[00435] Анализы для измерения конкуренции между двумя антителами или антителом и другой молекулой (например, одним или более лигандами TF) описаны в другом месте в данном описании и, например, в Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14, 1988, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y, включенном в полном объеме посредством ссылки.

[00436] Анализы для картирования эпитопов, с которыми связываются предложенные в данном документе антитела, описаны, например, в Morris "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* vol. 66, 1996, Humana Press, Totowa, N.J., включенном в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления эпитоп определяется посредством конкуренцией пептидов. В некоторых вариантах осуществления эпитоп определяется посредством масс-спектрометрии. В некоторых вариантах осуществления эпитоп определяется посредством кристаллографии.

8.2. Анализы образования тромбина, превращения FXa и передачи сигналов TF

[00437] Образование тромбина в присутствии предложенных в данном документе антител может быть определено с помощью анализа образования тромбина (TGA), как описано в другом месте в данном описании.

[00438] Анализы для измерения превращения FXa в присутствии предложенных в данном документе антител описаны в другом месте в данном описании.

[00439] Ингибирование передачи сигналов TF можно определить путем измерения продукции цитокинов, регулируемых передачей сигналов TF, таких как IL8 и GM-CSF. Анализы для определения уровня IL8 и/или GM-CSF предложены в другом месте в данном описании и, например, в Hjortoe et al., *Blood*, 2004, 103:3029-3037.

8.3. Анализы эффекторных функций

[00440] Эффекторная функция после лечения представленными в данном документе антителами может быть оценена с использованием множества анализов *in vitro* и *in vivo*, известных в данной области техники, включая те, что описаны в Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.*, 1991, 9:457-492; патентах США № 5500362, 5821337; Hellstrom et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 1986, 83:7059-7063; Hellstrom et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 1985, 82:1499-1502; Bruggemann et al., *J. Exp. Med.*, 1987, 166:1351-1361; Clynes et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 1998, 95:652-656; WO 2006/029879; WO 2005/100402; Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods*, 1996, 202:163-171; Cragg et al., *Blood*, 2003, 101:1045-1052; Cragg et al. *Blood*, 2004, 103:2738-2743; и Petkova et al., *Int'l. Immunol.*, 2006, 18:1759-1769, каждый из которых включен в полном объеме посредством ссылки.

8.4. Анализы цитотоксичности и исследования *in vivo*

[00441] Анализы для оценки цитотоксичности конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC), представленных в данном документе, описаны в других частях данного описания.

[00442] Исследования ксенотрансплантатов на мышях с ослабленным иммунитетом для оценки *in vivo* эффективности ADC, представленных в данном документе, описаны в другом месте в данном описании.

[00443] В данном раскрытие включены сингенные исследования на иммунокомпетентных мышцах для оценки эффективности ADC *in vivo*.

8.5. Иммуногистохимические (ИГХ) анализы

[00444] Иммуногистохимические (ИНС) анализы для оценки экспрессии TF в образцах пациентов описаны в другом месте в данном описании.

8.6. Картирование химерных конструкций и анализы связывания эпитопов

[00445] Различия в связывании эпитопа между антителами к TF человека, предложенными в данном документе, можно определить с помощью экспериментов по картированию химерных конструкций TF и анализов связывания эпитопов, что описано в другом месте в данном описании.

9. Фармацевтические композиции

[00446] Предложенные в данном документе антитела могут быть составлены в виде любой подходящей фармацевтической композиции и вводиться любым подходящим путем введения. Путь введения фармацевтической композиции может соответствовать известным способам, например, перорально, путем внутривенной, внутривентрикулярной, интрацеребральной (внутрипаренхиматозной), интрацеребровентрикулярной, внутримышечной, внутриглазной, внутриартериальной, интрапортальной, внутриочаговой инъекции, интрамедуллярно, интратекально, внутривентрикулярно, чрескожно, подкожно, интраперитонеально, интраназально, энтерально, местно, сублингвально, уретрально, вагинально или ректально, с помощью систем с замедленным высвобождением или устройств для имплантации. При желании композиции можно вводить с помощью болюсной инъекции или непрерывно путем инфузии, или с помощью устройства для имплантации. В определенных вариантах осуществления подходящие пути введения включают, но не ограничиваются ими, внутриартериальный, внутрикожный, внутримышечный, внутривентрикулярный, внутривенный, назальный, парентеральный, местный, легочный и подкожный пути.

[00447] Фармацевтическая композиция может содержать один или более фармацевтических эксципиентов. Может быть использован любой подходящий фармацевтический эксципиент, и специалист в данной области техники сможет выбрать подходящие фармацевтические эксципиенты. Соответственно, фармацевтические эксципиенты, предложенные ниже, предназначены для иллюстрации, а не ограничения. Дополнительные фармацевтические эксципиенты включают, например, описанные в Handbook of Pharmaceutical Excipients, Rowe et al. (Eds.) 6th Ed. (2009), включенном в полном объеме посредством ссылки.

9.1. Парентеральные лекарственные формы

[00448] В определенных вариантах осуществления антитела, представленные в данном документе, готовят в виде лекарственных форм для парентерального применения. Лекарственные формы для парентерального применения можно вводить субъектам различными путями, включая, помимо прочего, подкожную, внутривенную (включая инфузии и болюсные инъекции), внутримышечную и внутриартериальную инъекции.

Поскольку их введение обычно обходит естественную защиту субъекта от загрязняющих веществ, лекарственные формы для парентерального применения обычно являются стерильными или их можно стерилизовать перед введением субъекту. Примеры парентеральных лекарственных форм включают, но не ограничиваются ими, растворы, готовые для инъекции, сухие (например, лиофилизированные) продукты, готовые к растворению или суспендированию в фармацевтически приемлемом носителе для инъекций, суспензии, готовые для инъекции, и эмульсии.

10. Дозировка и разовые лекарственные формы

[00449] В терапевтических целях для человека врач определяет дозу, которую он считает наиболее подходящей для профилактического или лечебного лечения, а также в соответствии с возрастом, массой, состоянием и другими факторами, специфичными для субъекта, которого лечат.

[00450] В некоторых вариантах осуществления композиция, предложенная в данном документе, представляет собой фармацевтическую композицию или разовую дозированную форму. Предложенные в данном документе фармацевтические композиции и разовые стандартные лекарственные формы содержат профилактически или терапевтически эффективное количество одного или более профилактических или терапевтических антител или ADC.

[00451] Количество антитела/ADC или композиции, которое будет эффективным для профилактики или лечения расстройства или одного или более его симптомов, может варьировать в зависимости от природы и тяжести заболевания или состояния, а также пути, которым вводят антитело/ADC. Частота и дозировка также могут варьировать в зависимости от факторов, специфичных для каждого субъекта, в зависимости от вводимой конкретной терапии (например, терапевтических или профилактических средств), тяжести расстройства, заболевания или состояния, пути введения, а также возраста, тела, массы, реакции и истории болезни субъекта. Эффективные дозы могут быть экстраполированы из кривых доза-ответ, полученных в *in vitro* или модельных испытаний на животных системах.

[00452] Различные терапевтически эффективные количества могут быть применимы для различных заболеваний и патологических состояний, как будет легко известно специалистам в данной области техники. Точно так же количества, достаточные для предотвращения, контроля, лечения или облегчения таких нарушений, но недостаточные для того, чтобы вызывать или достаточные для уменьшения побочных эффектов, связанных с антителами или ADC, предоставленными в данном документе, также охватываются количествами доз и схемами частоты введения, представленными в данном документе. Кроме того, когда субъекту вводят несколько доз композиции, предложенной в данном документе, не обязательно, чтобы все дозировки были одинаковыми. Например, доза, вводимая субъекту, может быть увеличена для улучшения профилактического или терапевтического эффекта композиции или может быть уменьшена для уменьшения одного или более побочных эффектов, которые испытывает

конкретный субъект.

[00453] Как обсуждается более подробно в другом месте в данном описании, антитело или ADC, предложенное в данном документе, можно необязательно вводить с одним или более дополнительными агентами, полезными для предотвращения или лечения заболевания или расстройства. Эффективное количество таких дополнительных агентов может зависеть от количества ADC, присутствующего в составе, типа расстройства или лечения и других факторов, известных в данной области или описанных в данном документе.

11. Терапевтическое применение

[00454] Для терапевтического применения антитела по изобретению вводят субъекту, как правило, млекопитающему, как правило, человеку, в фармацевтически приемлемой лекарственной форме, например, форме, известной в данной области техники, и форме, описанной выше. Например, антитела по изобретению можно вводить субъекту внутривенно в виде болюса или путем непрерывной инфузии в течение определенного периода времени, интравитреальным, внутримышечным, внутрибрюшинным, интрацереброспинальным, подкожным, внутрисуставным, интрасиновиальным, интратекальным путем или местным путем. В определенных вариантах осуществления введение осуществляется посредством внутривенной, внутримышечной, внутриопухолевой, подкожной, интрасиновиальной, внутриглазной, внутрибляшечной или внутрикожной инъекции антитела или вектора экспрессии, содержащего кДНК, кодирующую антитело. Вектор может представлять собой дефицитные по репликации аденовирусный вектор, ретровирусный вектор или другие вирусные векторы, имеющие кДНК, кодирующую антитело.

[00455] В некоторых вариантах осуществления пациента лечат эффективным количеством одного или более дефицитных по репликации аденовирусных векторов или одного или более аденоассоциированных векторов, несущих кДНК, кодирующую антитело.

[00456] Представленные в данном документе антитела могут быть полезны для лечения воспалительных заболеваний, связанных с ТФ. Используемый термин «воспалительное заболевание» в широком смысле относится к любому заболеванию, нарушению, повреждению или патологическому состоянию, характеризующемуся воспалением (локальным или системным, острым или хроническим). Используемый термин «воспалительное заболевание» также включает аутоиммунные заболевания. Кроме того, используемый термин «воспалительные заболевания» также охватывает симптомы воспаления.

[00457] Примеры симптомов воспаления включают, без ограничения, повышенную концентрацию или экспрессию воспалительных цитокинов и хемокинов (местных или системных), отек, боль, фиброз, повышенную скорость оседания эритроцитов (СОЭ), инфильтрацию мононуклеарными клетками и/или гранулоцитами пораженного или поврежденного места (например, интерстициальную жидкость легких, альвеолы, место

острой травмы и т. д.), увеличение селезенки, потерю массы, гипоксемию, определяемую с помощью пульсоксиметрии (указывает на воспалительное заболевание, поражающее дыхательную систему), снижение клиренса альвеолярной жидкости, изменение консистенции стула (например, размягчение стула субъекта), диарею (например, хроническую диарею), гематокезию, скрытую кровь, эритрозы (покраснение) в месте воспаления или травмы, жар (повышенную температуру тела) в месте воспаления или травмы, *functio laesa* (потерю функции) в месте воспаления или травмы или в пораженном органе, сыпь, головную боль, лихорадку, тошноту или локальное повреждение тканей или клеток.

[00458] Лечение воспалительного заболевания с использованием способов по настоящему изобретению приводит к уменьшению или облегчению одного или более неблагоприятных симптомов воспалительного заболевания или других эффектов, связанных с сокращением или прогрессированием воспалительного заболевания.

[00459] В некоторых случаях увеличение общего количества лейкоцитов является симптомом воспалительного заболевания (например, колита, воспалительного заболевания кишечника, артрита, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и респираторно-синцитиального вируса (РСВ)). В определенных вариантах осуществления при введении антитела или ADC, представленных в данном документе, антитело или ADC снижает общее количество лейкоцитов, например, по меньшей мере на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% относительно исходных уровней и/или другого противовоспалительного агента. Способы измерения общего количества лейкоцитов известны в данной области техники. В определенных вариантах осуществления общее количество лейкоцитов определяют с помощью световой микроскопии.

[00460] В некоторых случаях увеличение общего количества гранулоцитов (например, общего количества нейтрофилов, общего количества эозинофилов, общего количества базофилов) является симптомом воспалительного заболевания (например, колита, воспалительного заболевания кишечника, артрита, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и респираторно-синцитиального вируса а(РСВ)). В определенных вариантах осуществления при введении антитела или ADC, представленных в данном документе, антитело или ADC снижает общее количество гранулоцитов, например, по меньшей мере на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% относительно исходных уровней и/или другого противовоспалительного агента. Способы измерения общего количества гранулоцитов известны в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления общее количество гранулоцитов определяют с помощью иммуногистохимического (ИГХ) анализа образца ткани или образца сыворотки. В некоторых вариантах осуществления общее количество гранулоцитов определяют с помощью дифференциального подсчета клеток в жидкости бронхоальвеолярного лаважа

(БАЛ). Способы проведения дифференциального подсчета клеток и анализа жидкости БАЛ известны в данной области техники (см., например, Choi SH, et al. PLoS One. 2014;9(5):e97346, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме).

[00461] В некоторых случаях увеличение общего количества мононуклеаров (например, общего количества макрофагов, общего количества лимфоцитов) является симптомом воспалительного заболевания (например, колита, воспалительного заболевания кишечника, артрита, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), и респираторно-синцитиального вируса (РСВ)). В определенных вариантах осуществления при введении антитела или ADC, представленных в данном документе, антитело или ADC снижает общее количество мононуклеарных клеток, например, по меньшей мере на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% относительно исходных уровней и/или другого противовоспалительного агента. Способы измерения общего количества мононуклеарных клеток известны в данной области техники. В определенных вариантах осуществления общее количество мононуклеарных клеток определяют с помощью иммуногистохимического (ИГХ) анализа образца ткани или образца сыворотки. В определенных вариантах осуществления общее количество мононуклеарных клеток определяют с помощью дифференциального подсчета клеток в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). Способы проведения дифференциального подсчета клеток и анализа жидкости БАЛ известны в данной области техники (см., например, Choi SH, et al. PLoS One. 2014;9(5):e97346, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме).

[00462] В определенных вариантах осуществления лечение антителом или ADC по настоящему изобретению приводит к уменьшению количества M1 макрофагов и/или уменьшению количества M2 макрофагов. В определенных вариантах осуществления лечение антителом или ADC по настоящему изобретению приводит к уменьшению количества M1 макрофагов и/или повышению количества M2 макрофагов. При некоторых воспалительных заболеваниях повышенный уровень M2 макрофагов связан с бессимптомным течением заболевания или регрессом заболевания. (См. Hu, Kebin, et al., Journal of Immunology Research, 2018 который полностью включен посредством ссылки).

[00463] В некоторых случаях спленомегалия (увеличенная селезенка) является симптомом воспалительного заболевания. В некоторых вариантах осуществления при введении антитела или ADC, представленных в данном документе, антитело или ADC снижает массу селезенки, уменьшает размер селезенки или устраняет/реверсирует спленомегалию по сравнению с исходными уровнями или по сравнению с другим противовоспалительным средством. В клинических условиях измерение массы селезенки может оказаться нецелесообразным. В таких случаях прогрессирование (или реверсирование) спленомегалии можно измерить с использованием методов, известных в данной области техники (например, пальпации, перкуссии, ультразвукового исследования,

компьютерной томографии (КТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ)). УЗИ, компьютерная томография (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ) позволяют визуализировать селезенку. УЗИ или компьютерная томография (КТ) помогают определить размер вашей селезенки и определить, не сдавливает ли она другие органы. Магнитно-резонансная томография (МРТ) позволяет врачу исследовать кровоток в селезенке.

[00464] В некоторых случаях фиброз (например, фиброз легочной ткани или фиброз в месте воспаления) является симптомом воспалительного заболевания. Фиброз часто характерен для хронического воспаления. В определенных вариантах реализации при введении антитела или ADC, представленных в данном документе, антитело или ADC уменьшает фиброз (например, фиброз в легких, коже или печени) по сравнению с исходными уровнями или по сравнению с другим противовоспалительным средством. Изменения в фиброзе можно измерить с помощью ИГХ анализа ткани или с помощью количественной компьютерной томографии высокого разрешения (qHRCT).

[00465] В некоторых случаях повышенная скорость оседания эритроцитов (СОЭ) является индикатором воспалительного заболевания. СОЭ представляет собой скорость, с которой эритроциты в цельной крови с антикоагулянтом оседают в стандартной пробирке в течение одного часа. Это обычный гематологический тест, который является неспецифическим показателем воспаления. В определенных вариантах осуществления при введении антитела или ADC, представленных в данном документе, антитело или ADC снижает СОЭ, например, по меньшей мере на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%, относительно исходных уровней и/или другого противовоспалительного агента.

[00466] В некоторых случаях изменение консистенции стула, размягчение стула и/или диарея являются симптомом(-ами) воспалительного заболевания (например, колита, воспалительного заболевания кишечника (ВЗК)). Например, у субъекта с воспалительным заболеванием может быть жидкий стул, который оценивается выше 4, 5 или 6 типа по Бристольской шкале формы стула. Бристольская шкала формы стула (BSFS) или Бристольская шкала стула была разработана как метод оценки времени кишечного транзита у взрослых (см. Lewis S J, et al., Scand J Gastroenterol, 32:920-924 (1997), которая включена посредством ссылки в полном объеме). Это шкала в виде бумажных диаграмм, состоящая из 2-мерных представлений различных типов стула, упорядоченных по вертикали, где каждый тип стула изображен вместе с текстовым описанием каждого типа стула. BSFS широко используется у пациентов с функциональными желудочно-кишечными расстройствами (FGID) в клинической практике. Пример способов и устройств для определения консистенции стула представлен в заявке США № 13/592906, полностью включенной посредством ссылки. В случаях, когда у субъекта с воспалительным заболеванием (например, колит, ВЗК) наблюдается жидкий стул, при введении антитела или ADC, представленных в данном документе, антитело или ADC приводит к затвердеванию стула по сравнению с исходными уровнями и/или другим

противовоспалительным агентом. В определенных вариантах осуществления при введении антитела или ADC, представленных в данном документе, антитело или ADC приводит к консистенции стула, классифицируемой как 3 по шкале BSFS. Другие конечные точки или симптомы, которые могут быть улучшены путем лечения антителом или ADC, представленными в данном документе, включают гематохезию, частоту стула, императивные позывы на дефекацию и их тяжесть, а также боль в животе.

[00467] В некоторых случаях гематохезия и/или скрытая кровь являются симптомом воспалительного заболевания (например, колита или ВЗК). Гематохезия представляет собой выделение крови из заднего прохода (обычно в стуле или со стулом). Гематохезия может быть определена при визуальном исследовании стула. Напротив, скрытая кровь представляет собой кровь в стуле, которая не видна визуальным способом и может также свидетельствовать о воспалительном заболевании. Более точным методом определения изменения количества крови в кале (особенно скрытой крови) является использование гемокульт-теста, анализа кала на скрытую кровь или иммунохимической реакции гемагглютинации. Способы проведения гемокульт-теста известны в данной области техники (например, тест можно проводить с использованием набора предметных стекол Hemocult, SmithKline Diagnostics, Inc. и инструкций производителя). Способы проведения иммунохимических тестов гемагглютинации также известны в данной области техники и используют для обнаружения антитела, специфичные к человеческому гемоглобину.

[00468] В некоторых случаях снижение чистого клиренса альвеолярной жидкости (AFC) или нарушение AFC является симптомом воспалительного заболевания (например, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и острого повреждения легких). В некоторых вариантах осуществления при введении антитела или ADC, представленных в данном документе, антитело или ADC увеличивает AFC относительно исходных уровней или другого противовоспалительного агента. AFC можно измерить, используя методы, известные в данной области техники, например, последовательное измерение концентраций белка в отечной жидкости. Способы определения изменений в AFC с использованием последовательного измерения концентраций белка в отечной жидкости представлены, например, в Ware, L.B. and Michael, M.A., *American journal of respiratory and critical care medicine*, 163.6 (2001): 1376-1383, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[00469] Воспаление может прямо или косвенно вызывать повреждение клеток, тканей или органов множества клеток, тканей или органов или одного типа клеток, типа ткани или органа. Иллюстративные ткани и органы, которые могут иметь повреждения, зависят от воспалительного заболевания и включают эпителиальную ткань или ткань слизистой оболочки, желудочно-кишечный тракт, кишечник, поджелудочную железу, вилочковую железу, печень, почки, селезенку, кожу или сустав (например, коленный, голеностопный, тазобедренный, плечевой суставы, запястье, сустав пальца, пальца ноги или локтя). Лечение в соответствии с настоящим изобретением может привести к

уменьшению или ингибированию повреждения тканей или может привести к регенерации поврежденных органов или тканей (например, кожи, слизистой оболочки, печени, легких и т. д.).

[00470] **На Фиг. 1** представлены примеры характеристик/симптомов ОПЛ и ОРДС у людей. (См. Matute-Bello 2008 American Journal of Physiology, который полностью включен посредством ссылки).

[00471] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ задержки манифестации воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела или ADC, представленных в данном документе.

[00472] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ предотвращения манифестации воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела или ADC, представленных в данном документе.

[00473] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ увеличения периода общей выживаемости, среднего времени выживаемости или выживаемости без прогрессирования у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела или ADC, предложенных в данном документе.

[00474] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ лечения субъекта, который стал устойчивым к стандартному терапевтическому уходу, путем введения субъекту эффективного количества антитела или ADC, предложенных в данном документе.

[00475] В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, при котором лечение антителом к TF может быть улучшено, представляет собой заболевание или состояние, включающее воспаление. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой колит, воспалительное заболевание кишечника, артрит, острое повреждение легких, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) или респираторно-синцитиальный вирус (РСВ). В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние, при котором лечение антителом к TF может быть улучшено, представляет собой заболевание или состояние, включающее васкулярное воспаление.

[00476] В некоторых вариантах осуществления антитела к TF или ADC, предложенные в данном документе, предназначены для применения в качестве лекарственного средства для лечения заболевания или патологического состояния, связанного с воспалением. В некоторых вариантах осуществления антитела к TF, предложенные в данном документе, предназначены для применения в производстве или приготовлении лекарственного средства для лечения воспалительного заболевания. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой колит, воспалительное заболевание кишечника, артрит, острое повреждение легких,

острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) или респираторно-синцитиальный вирус (РСВ). В некоторых вариантах осуществления антитела к TF или ADC, предложенные в данном документе, предназначены для применения в качестве лекарственного средства для лечения заболевания или патологического состояния, связанного с васкулярным воспалением. В некоторых вариантах осуществления антитела к TF, предложенные в данном документе, предназначены для применения при изготовлении или получении лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, связанного с васкулярным воспалением.

[00477] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ лечения воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела к TF, представленного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой колит, воспалительное заболевание кишечника, артрит, острое повреждение легких, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) или респираторно-синцитиальный вирус (РСВ). В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ лечения заболевания или состояния, связанного с васкулярным воспалением, у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела к TF или ADC, предложенного в данном документе.

[00478] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ задержки манифестации воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела, предложенного в данном документе.

[00479] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ предотвращения возникновения воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела, предложенного в данном документе.

[00480] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ отсрочки начала развития заболевания или состояния, связанного с васкулярного воспаления, у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела, предложенного в данном документе.

[00481] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ предотвращения начала развития заболевания или состояния, связанного с васкулярного воспаления, у субъекта, который нуждается в этом, путем введения субъекту эффективного количества антитела, предложенного в данном документе.

12. Воспаление и воспалительные заболевания

[00482] Воспаление можно разделить на острое и хроническое. Острое воспаление является начальной реакцией организма на вредные раздражители и достигается усилением движения плазмы и лейкоцитов (например, лейкоцитов, например, мононуклеарных клеток и гранулоцитов) из крови в поврежденную ткань. Это инициирует каскад биохимических событий, которые приводят к стойкой воспалительной реакции,

включая различные клетки в местной сосудистой системе, иммунной системе и поврежденной ткани. Напротив, хроническое воспаление приводит к прогрессирующему сдвигу типов клеток, присутствующих в месте воспаления, и характеризуется одновременным разрушением и заживлением ткани в результате воспалительного процесса. Хроническое воспаление также может привести к заболеваниям хозяина, включая, помимо прочего, сенную лихорадку, пародонтит, атеросклероз, ревматоидный артрит и злокачественное новообразование, что подчеркивает потребность организма в строгом контроле со стороны организма.

[00483] Примеры воспалительных заболеваний, которые рассматриваются в способах по настоящему изобретению, включают: колит, воспалительное заболевание кишечника, артрит, острое повреждение легких (ОПЛ), острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) и респираторно-синцитиальный вирус (РСВ).

[00484] Неограничивающие примеры воспалительных заболеваний включают, но не ограничиваются ими, обыкновенные угри, острое повреждение легких, острый респираторный дистресс-синдром, астму, аутоиммунные заболевания (например, острый диссеминированный энцефаломиелит (ОРЭМ)), болезнь Аддисона, агаммаглобулинемию, очаговую алопецию, боковой амиотрофический склероз, анкилозирующий спондилит, антифосфолипидный синдром, антисинтетазный синдром, atopическую аллергию, atopический дерматит, аутоиммунную апластическую анемию, аутоиммунную кардиомиопатию, аутоиммунную энтеропатию, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунный гепатит, аутоиммунное заболевание внутреннего уха, аутоиммунный лимфопролиферативный синдром, аутоиммунную периферическую невропатию, аутоиммунную панкреатит, аутоиммунный полиэндокринный синдром, аутоиммунный прогестероновый дерматит, аутоиммунную тромбоцитопеническую пурпуру, аутоиммунную крапивницу, аутоиммунный увеит, концентрический склероз Бало, болезнь Бехчета, болезнь Бергера, энцефалит Бикерстаффа, синдром Блау, буллезный пемфигоид, болезнь Кастлемана, целиакию, болезнь Шагаса, хроническую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию, хронический рецидивирующий многоочаговый остеомиелит, хроническую обструктивную болезнь легких, синдром Черджа-Строса, рубцовый пемфигоид, синдром Когана, колит, болезнь холодовых агглютининов, дефицит компонента 2 комплемента, контактный дерматит, краниальный артериит, CREST-синдром, болезнь Крона, синдром Кушинга, кожный лейкоцитокластический васкулит, болезнь Дего, болезнь Деркума, герпетиформный дерматит, дерматомиозит, сахарный диабет 1, диффузный кожный системный склероз, синдром Дресслера, лекарственную волчанку, дискоидную красную волчанку, экзему, эндометриоз, энтезит-ассоциированный артрит, эозинофильный фасциит, эозинофильный гастроэнтерит, приобретенный буллезный эпидермолиз, узловатую эритему, фетальный эритробластоз, эссенциальную смешанную криоглобулинемию, синдром Эвана, прогрессирующую оссифицирующую фибродисплазию, фиброзирующий альвеолит, гастрит, желудочно-кишечный пемфигоид, гигантоклеточный артериит,

гломерулонефрит, синдром Гудпасчера, болезнь Грейвса, синдром Гийена-Барре, энцефалопатию Хашимото, тиреоидит Хашимото, пурпуру Шенляйна-Геноха, герпес беременных, гнойный гидраденит, синдром Хьюза-Стовина, гипогаммаглобулинемию, идиопатические воспалительные демиелинизирующие заболевания, идиопатический легочный фиброз, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпура, IgA-нефропатию, миозит с тельцами включения, хроническую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию, интерстициальный цистит, ювенильный идиопатический артрит, болезнь Кавасаки, миастенический синдром Ламберта-Итона, лейкоцитокластический васкулит, красный плоский лишай, склеротический лишай, IgA зависимый линейный дерматоз, красную волчанку, синдром Маджида, болезнь Меньера, микроскопический полиангиит, смешанное поражение соединительной ткани, очаговую склеродермию, болезнь Мухи-Габермана, тяжелую миастению, миозит, нарколепсию, оптикомиелит, нейромиотонию, глазной рубцовый пемфигоид, опсо-миоклональный синдром, тиреоидит Орда, палиндромный ревматизм, синдром PANDAS, паранеопластическую дегенерацию мозжечка, ночную пароксизмальную гемоглобинурию, синдром Парри-Ромберга, синдром Парсонажа-Тернера, воспаление *rags plana*, обыкновенную пузырчатку, пернициозную анемию, околовенозный энцефаломиелит, POEMS-синдром, узелковый полиартериит, ревматическую полимиалгию, полимиозит, первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит, прогрессирующую воспалительную невропатию, псориазический артрит, гангренозную пиодермию, парциальную красноклеточная аплазию костного мозга, энцефалит Расмуссена, синдром Рейно феномен, рецидивирующий полихондрит, синдром Рейтера, респираторно-синцитиальный вирус (ПСВ), синдром беспокойных ног, забрюшинный фиброз, ревматическую лихорадку, синдром Шницлера, склерит, склеродермию, сывороточная болезнь, синдром Шегрена, спондилоартропатию, синдром скованного человека, подострый бактериальный эндокардит, синдром Сусака, синдром Свита, симпатическую офтальмию, синдром Такаясу, височный артериит, тромбоцитопению, синдром Толоса-Ханта, поперечный миелит, язвенный колит, недифференцированное заболевание соединительной ткани, недифференцированную спондилоартропатию, витилиго и гранулематоз Вегенера), целиакию, хронический простатит, гломерулонефрит, гиперчувствительность, воспалительные заболевания кишечника, воспалительные заболевания органов малого таза, реперфузионное повреждение, ревматоидный артрит, саркоидоз, отторжение трансплантата, васкулит, интерстициальный цистит и остеоартрит.

[00485] В некоторых вариантах осуществления термин «воспалительные заболевания» включает вирусные инфекции. В некоторых вариантах реализации воспалительное заболевание включает коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2). В некоторых вариантах осуществления антитело к TF, как описано в данном документе, используется для лечения патогенного вируса, такого как респираторно-синцитиальный вирус (PCB), полиовирус, вирус простого герпеса, вирус гепатита А, ротавирус, аденовирус, SARS-CoV-2 и вирус гриппа типа А. В некоторых

вариантах осуществления патогенный вирус выбран из: Herpesviridae, Poxviridae, Hepadnaviridae, Coronaviridae, Flaviviridae, Togaviridae, Retroviridae, Orthomyxoviridae, Arenaviridae, Bunyaviridae, Filoviridae, Paramyxoviridae, и Rhabdoviridae. В одном варианте осуществления указанный вирус выбран из группы, состоящей из простого герпеса типа 1, простого герпеса типа 2, вируса ветряной оспы, вируса Эпштейна-Барра, цитомегаловируса человека, вируса герпеса человека, оспы, вируса гепатита В, вируса тяжелой острой респираторной инфекции, вируса синдрома, вируса гепатита С, вируса желтой лихорадки, вируса денге, вируса Западного Нила, вируса КЭ, вируса Зика, вируса краснухи, вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), вируса гриппа, вируса Ласса, вируса конго-крымской геморрагической лихорадки, вируса Хантаан, вируса Эбола, вируса Марбург, вируса кори, вируса эпидемического паротита, вируса парагриппа, респираторно-синцитиального вируса, вируса бешенства и вируса гепатита D (HDV).

[00486] Некоторые аутоиммунные заболевания считаются воспалительными заболеваниями и/или вызывают воспаление с помощью различных механизмов. Лечение аутоиммунного заболевания с использованием антитела или ADC, представленных в данном документе, также рассматривается в настоящем изобретении. Неограничивающие примеры воспалительных заболеваний включают: Примеры аутоиммунных заболеваний или нарушений включают артрит, такой как ревматоидный артрит, острый артрит, ревматоидный артрит, подагрический артрит, острый подагрический артрит, острый иммунологический артрит, хронический воспалительный артрит, остеоартрит, артрит, вызванный коллагеном II типа, инфекционный артрит, артрит Лайма, пролиферативный артрит, псориаз, болезнь Стилла, спондилоартрит, ювенильный ревматоидный артрит, остеоартрит, хронический прогрессирующий артрит, остеоартрит, хронический первичный множественный хронический первичный полиартрит, реактивный артрит и анкилозирующий спондилоартрит; воспалительное гиперпролиферативное заболевание кожи; псориаз, например, вульгарный псориаз, каплевидный псориаз, пустулезный псориаз, псориаз ногтей; атопию (например, атопические заболевания, например, сенную лихорадку и синдром Иова); дерматит (например, контактный дерматит, хронический контактный дерматит, эритродермию, аллергический дерматит, аллергический контактный дерматит, герпетический дерматит, монетовидный дерматит, себорейный дерматит, неспецифический дерматит, первичный ирритантный контактный дерматит и атопический дерматит); X-сцепленный гипер-IgM-синдром; аллергические внутриглазные воспалительные заболевания; крапивницу, например, хроническую аллергическую крапивницу, хроническую идиопатическую крапивницу и хроническую аутоиммунную крапивницу; миозит; полимиозит/дерматомиозит; ювенильный дерматомиозит; токсический эпидермальный некроз; склеродермию, например, системную склеродермию; склероз, т.е. склероз всего тела, рассеянный склероз (РС), спинооптический РС, первично-прогрессирующий РС (ППРС), рецидивирующе-ремиттирующий РС (PPRC), прогрессирующий системный склероз, атеросклероз, артериосклероз, диссеминированный склероз и атаксический

склерооптический нейромиеелит (NMO); воспалительное заболевание кишечника (ВЗК), например, болезнь Крона, аутоиммунно-опосредованное желудочно-кишечное заболевание, колит, язвенный колит, язвенный колит, микроскопический колит, коллагенозный колит, полипозный колит, некротизирующий энтероколит, панколит и аутоиммунное воспалительное заболевание кишечника; энтерит; гангренозную склеродермию; узловатую эритему; первичный склерозирующий холангит синдром одышки, например, синдром взрослой или острой одышки (ОРДС); менингит; воспаление всей или части сосудистой оболочки глаза; ирит; хориоидит; аутоиммунное заболевание крови; ревматический спондилит; синовит; наследственный ангионевротический отек; заболевания черепных нервов, такие как менингит; гестационный герпес; гестационный пемфигоид; зуд мошонки; аутоиммунную дисфункцию яичников; аутоиммунные симптомы внезапная потеря слуха из-за IgE-опосредованных заболеваний, таких как вызванный анафилактическим шоком энцефалит, т.е. энцефалопатия Рамссена и лимбический и/или стволовой энцефалит; увеит, например, передний увеит, острый передний увеит, гранулематозный увеит, негранулематозный увеит, антигенный увеит хрусталика, задний увеит или аутоиммунный увеит; гломерулонефрит (ГН) с нефротическим синдромом или без него, например хронический или острый нитевидный шаровидный нефрит, первичный ГН, иммуноопосредованный ГН, мембранозный ГН (мембранозную нефропатию), идиопатический мембранозный ГН или идиопатическую мембранозную нефропатию, мембранозный или мембранозно-пролиферативный ГН (МПГН), например, тип I, тип II и быстро прогрессирующий ГН; пролиферативный нефрит; аутоиммунную множественную эндокринную недостаточность; баланит, например, локализованный плазматочный буллит; воспаление крайней плоти; эфферентную кольцевидную эритему; мультиформную эритему; кольцевидную гранулему; застарелый лишай; атрофический лишай; бидаровский лишай; колючий лишай; красный плоский лишай; ламеллярный ихтиоз; эксфолиативный кератоз; предраковый кератоз; гангренозную склеродермию; аллергические симптомы и реакции; реакции; экзему, например, аллергическую и атопическую экзему, экзему с дефицитом кожного сала, везикулярную экзему и везикулярную ладонно-подошвенную экзему; астму, например, бронхиальную астму, бронхиальную астму и аутоиммунную астму; Т-клеточную инфильтрацию и симптомы, включая хроническую воспалительную реакцию; иммунный ответ на чужеродные антигены, такие как группа крови плода по системе ABO во время беременности; хроническое воспалительное заболевание легких; аутоиммунный миокардит; дефицит адгезии лейкоцитов; волчанку, например, волчаночный нефрит; волчаночный энцефалит, детскую волчанку, непочечную волчанку, внепочечную волчанку, дискоидную волчанку и дискоидную красную волчанку, алопецию при волчанке, системную красную волчанку СКВ, кожную СКВ, подострую кожную СКВ, синдром неонатальной волчанки (NLE) и диссеминированную волчанку, красную волчанку (диссеминированную красную волчанку); юношеский диабет (тип I), т.е. детскую инсулиновую зависимость сахарный диабет (IDDM), диабет взрослых (диабет II

типа), аутоиммунный диабет, идиопатический несахарный диабет, диабетическую ретинопатию, диабетическую нефропатию и диабетическое заболевание аорты; опосредованный цитокинами и Т-лимфоцитами иммунный ответ, связанный с острой и замедленной гиперчувствительностью; туберкулез; саркоидоз; гранулематоз, например, лимфомоподобный гранулематоз; гранулематоз Вегенера; агранулоцитоз; васкулиты, например, васкулит, макроваскулярный васкулит, ревматоидную полимиалгию и гигантоклеточный (Такаясу) артериит, васкулит средних сосудов, болезнь Кавасаки, узловой полиартериит/узловой периартериит, микроскопический полиангиит, иммунный васкулит, васкулит ЦНС, кожный васкулит, гиперчувствительный васкулит, некротический васкулит, системный некротический васкулит, ANCA-ассоциированный васкулит, васкулит или синдром Черджа-Стросса (CSS) и ANCA-ассоциированный васкулит мелких сосудов; височный артериит; апластическую анемию; аутоиммунную апластическую анемию; анемию с положительным тестом Кумбса; синдром Даймонда-Блэкфана; гемолитическую анемию или иммунную гемолитическую анемию (например, аутоиммунную гемолитическую анемию (АИГА)), пернициоземию (пернициозную анемию); болезнь Аддисона; истинную эритроцитарную анемию или аплазию эритроцитов (PRCA); дефицит фактора VIII; гемофилию А, аутоиммунную нейтропению; панцитопению; лейкопению; заболевания, в том числе просачивание лейкоцитов; воспалительное заболевание ЦНС; синдром полиорганного повреждения, например, вторичного по отношению к сепсису, травме или кровотечению; заболевание, опосредованное комплексом антиген-антитело; заболевание, ассоциированное с антителами к базальной мембране клубочков; антифосфолипидный синдром; аллергическую болезнь/синдром Бехчета; синдром Кастлемана; синдром Гудпасчера; синдром Рейно; синдром Шегрена; синдром Стивенса-Джонсона; буллезный пемфигоид и кожный пемфигоид, пузырчатку, вульгарную пузырчатку, листовидную пузырчатку, пемфигоид слизистых оболочек и эритематозную пузырчатку; аутоиммунную мультиэндокринную эндокринопатию, болезнь или синдром Рейтера; термическую травму; преэклампсию; болезни иммунных комплексов, такие как иммунокомплексный нефрит и антителоопосредованный нефрит; множественную невропатию; хроническую нефропатию, такую как множественная IgM-нейропатия и IgM-опосредованный невроз; тромбоцитопению (например, у пациентов с инфарктом миокарда), в т.ч. тромботическую тромбоцитопеническую пурпуру (ТТП), посттрансфузионную пурпуру (РТП), гепарин-индуцированную тромбоцитопению, аутоиммунную или иммуноопосредованную тромбоцитопению, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (ИТП) и хроническую или острую ИТП; склерит, например, идиопатический склерит роговицы и эписклероз; аутоиммунные заболевания яичек и яичников, такие как аутоиммунный орхит; первичный гипотиреоз; гипопаратиреоз; аутоиммунные эндокринные заболевания, такие как тиреоидит, аутоиммунный тиреоидит, болезнь Хашимото, хронический тиреоидит (тиреоидит Хашимото) или подострый тиреоидит, аутоиммунное заболевание щитовидной железы, идиопатический гипотиреоз, болезнь Грейвса, полигландулярный

синдром, аутоиммунный полигландулярный синдром и полигландулярное эндокринное расстройство; паранеопластический синдром, такой как неврологический паранеопластический синдром; миастенический синдром Ламберта-Итона или синдром Итона-Ламберта; синдром Стиффмана или системную скованность, генитальный синдром; энцефаломиелит, например, аллергический миелит, энцефаломиелитную аллергию и экспериментальный аллергический энцефаломиелит (EAE); миастению гравис, например, миастению, связанную с тимомой, дегенерацию мозжечка; нервно-мышечный тонус; опсоклонус или опсоклонус-миоклонус-синдром (OMS); сенсорную невропатию; мультифокальную моторную невропатию; синдром Шихана; гепатит, такой как аутоиммунный гепатит, хронический гепатит, волчаночный гепатит, гигантоклеточный гепатит, хронический активный гепатит и аутоиммунный хронический активный гепатит; лимфоидную интерстициальную пневмонию (LIP); обструктивный бронхиолит (не трансплантационный) по сравнению с NSIP; синдром Гийена-Барре; болезнь Бергера (IgA-нефропатию); идиопатическую IgA-нефропатию; линейный IgA-дерматоз; острый нейтрофильный дерматоз; подроговой пустулезный дерматоз; например, первичный билиарный цирроз и легочный фиброз; аутоиммунное заболевание кишечника; целиакию или глютенную болезнь; липостул (глютенную энтеропатию); рефрактерную спру; идиопатическая спру; глобулинемию; боковой амиотрофический склероз (БАС; болезнь Лу Герига); кольцевую артериальную болезнь; аутоиммунное заболевание уха, такое как аутоиммунное заболевание внутреннего уха (AIED); аутоиммунную потерю слуха; хондрит, например, рефрактерный или рецидивирующий полихондрит; цитопротеиноз; синдром Когана/несифилитический интерстициальный кератит; белковый паралич; болезнь/синдром Свита; аутоиммунную розацеа; боль, связанную с опоясывающим лишаем; амилоидоз; нераковый лимфоцитоз; первичную лимфедему, например, моноклональную В-клеточную лимфоцитомегалию (например, доброкачественную моноклональную иммуноглобулиновую и моноклональную гаммапатию неустановленного значения (MGUS); периферическую невропатию; каналопатию, например, эпилепсию, мигрень, аритмию, мышечную недостаточность, геморрой, слепоту, периодический паралич и каналопатию ЦНС; аутизм, воспалительную миопатию, фокальный или сегментарный гломерулосклероз (FSGS); эндокринную офтальмопатию; аутоиммунное заболевание печени; фибромиалгию; множественную эндокринную недостаточность; синдром Шмидта; адреналит; атрофию желудка; пресенильную деменцию; демиелинизирующие заболевания, такие как аутоиммунная демиелинизирующая и хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия; синдром Дресслера; очаговую алопецию; полную алопецию; CREST-синдром (кальцификацию, феномен Рейно, гипоезофагеальную перистальтику, склерозии и телеангиэктазии); мужское и женское аутоиммунное бесплодие (например, антиспермальные антитела); смешанное поражение соединительной ткани; болезнь Шагаса; ревматическую лихорадку; повторный выкидыш; аллергический альвеолит у сельскохозяйственных рабочих; эритему; посткардиотомный синдром; Синдром Кушинга;

болезнь птиц; аллергический гранулематозный васкулит; доброкачественный кожный лимфоцитарный васкулит; синдром Альпорта; альвеолит, например аллергический альвеолит и фиброальвеолит; интерстициальную пневмонию; трансфузионную реакция; проказу; малярию; синдром Самтера; синдром Каплана; эндокардит; эндокардиальный фиброз миокарда; диффузный интерстициальный легочный фиброз; интерстициальный фиброз легких; легочный фиброз; идиопатический легочный фиброз; муковисцидоз; эндофтальмит; стойкую возвышенную эритему; фетальный эритробластоз; эозинофильный фасцит; синдром Шулмана синдром Фелти; воспаление; воспаление цилиарного тела, равномерный хронический циклит, метахронный циклит, циклит радужной оболочки (острый или хронический) или циклит Фуха; пурпуру Шенлейна-Геноха; сепсис; внутреннюю токсемию; панкреатит; тироксикоз; синдром Эвана; дисфункцию аутоиммунных желез; хорею Сиденгама; постстрептококковый нефрит; обструктивный тромбоз васкулит; тиреотоксикоз; спинной); хориоидит; гигантоклеточную полимиалгию; хронический гиперчувствительный пневмонит; сухой кератоконъюнктивит; эпидемический кератоконъюнктивит; идиопатический нефротический синдром; липоидный нефроз; доброкачественные семейные и ишемические нарушения перфузии; перфузию; аутоиммунную ретинопатию; воспаление суставов; бронхит; хроническую обструктивную болезнь дыхательных путей/легких; силикоз; афту; афтозный стоматит; атеросклеротическую болезнь; аспермиогенез; аутоиммунный гемолиз), Croglob Nchisho; контрактура Дюпюи-Транга (Дюпюитрена); индуцированный белками хрусталика эндофтальмит (факоанафилактический эндофтальмит); аллергический энтероколит; узловатую лепрозную эритему; идиопатический паралич лицевого нерва; ревматическую лихорадку; болезнь Хаммана-Рича; сенсорную невропатическую тугоухость; пароксизмальную гемоглобинурию (пароксизмальную ночную гемоглобинурию); гонадную дисфункцию; очаговый илеит; лейкопению; инфекционный мононуклеоз; первичную идиопатическую микседему; нефроз; симпатическую офтальмию; гранулематозный орхит; панкреатит; острую полинейропатию; гангренозную пиодермию; тиреоидит Кервена; приобретенную атрофию селезенки; незлокачественную тимому; витилиго; синдром токсического шока; пищевое отравление; симптомы, включая инфильтрацию Т-клеток; лейкоцитарно-адгезионную недостаточность; иммунный ответ, связанный с острой и замедленной гиперчувствительностью, опосредованной цитокинами и Т-лимфоцитами; симптомы, включая просачивание лейкоцитов; синдром полиорганной недостаточности; заболевание, опосредованное комплексом антиген-антитело заболевание с образованием антител к базальной мембране клубочков; аллергический неврит; аутоиммунную мультижелезистую эндокринную недостаточность; овит; первичную микседему; аутоиммунный атрофический гастрит; взаимозаменяемый офтальмит; нефротический синдром; инсулит; мультижелезистую эндокринную недостаточность; полигландулярный аутоиммунный синдром типа I (идиопатический гипопаратиреоз у взрослых: АОИ), кардиомиопатию, такую как дилатационная кардиомиопатия; приобретенный буллезный эпидермолиз (ЕВА); гемохроматоз; миокардит; нефротический

синдром; первичный склерозирующий холангит; гнойный или негнойный синусит; риносинит; этмоидит, лобный синусит, гайморит или клиновидный синусит; заболевания, связанные с эозинофилами, такие как эозинофилия, влажная эозинофилия легких, синдром эозинофилии-миалгии, синдром Леффлера, хроническая эозинофильная пневмония, локализованная легочная эозинофилия, бронхолегочный аспергиллез, аспергиллома или гранулемы, включая эозинофилы; анафилаксию; серонегативные спондилоартриты; полигландулярное эндокринное аутоиммунное заболевание; рассеянный склероз с поражением мышечно-кожного нерва; синдром Брутона; транзиторную младенческую гипогаммаглобулинемию; синдром Вискотта-Олдрича; атаксический синдром расширения периферических кровеносных сосудов; вазодилатацию; аутоиммунные заболевания, связанные с коллагеновой болезнью, ревматизм, неврологические заболевания, лимфаденит, снижение реакции кровяного давления, сосудистую дисфункцию, повреждение тканей, сердечно-сосудистую ишемию, гипералгезию, почечную ишемию, церебральную ишемию и заболевания, связанные с ангиогенезом; аллергическое заболевание; гломерулонефриты; реперфузионное повреждение; ишемический реперфузионный синдром; реперфузионное повреждение миокарда или других тканей, лимфомный бронхит; воспалительное заболевание кожи; дерматозы из-за компонента острого воспаления; полиорганную недостаточность; буллезную болезнь; нефрокортикальный некроз; острый гнойный менингит или другое воспалительное заболевание центральной нервной системы; воспалительные заболевания глаз и глазницы; синдромы, связанные с переливанием гранулоцитов; индуцированную цитокинами токсичность; нарколепсию; острое тяжелое воспаление; хроническое рефрактерное воспаление; пиелонефрит; артериальную гиперплазию; язвенная болезнь; вальвит; и эндометриоз.

[00487] В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело можно использовать для лечения заболевания или повреждения, связанного с повышением уровня активируемого протеазой рецептора 2 (PAR-2). В некоторых вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело можно использовать для лечения сердечно-сосудистого заболевания или травмы, связанной с повышением уровня PAR-2. В некоторых вариантах осуществления сердечно-сосудистое заболевание или повреждение представляет собой инфаркт миокарда. В некоторых вариантах осуществления сердечно-сосудистое заболевание или повреждение представляет собой атеросклероз. Примеры заболеваний, связанных с повышением уровня PAR2, приведены, например, в Heuberger, Dorothea M., and Reto A. Schuepbach. *Thrombosis journal* 17.1 (2019): 1-24 и Kagota, Satomi et al. *BioMed research international* vol. 2016 (2016): 3130496, соответствующие описания каждого из которых включены в данный документ посредством ссылки.

[00488] В определенных вариантах осуществления предложенное в данном документе антитело можно использовать для лечения злокачественного новообразования, связанного с воспалением. Например, антитело по настоящему изобретению можно вводить для

лечения CRS (синдром высвобождения цитокинов) после терапии на основе CAR-T. Например, ряд злокачественных новообразований, связанных с хроническим воспалением, включают колоректальный рак, рак легкого, мезотелиому, рак печени, пищевода, желудка, поджелудочной железы, желчного пузыря, яичников/матки, предстательной железы, мочевого пузыря, щитовидной железы, слюнных желез, ротовой полости (плоскоклеточный) и кожи, болезнь Ходжкина/неходжкинскую лимфому и MALT (лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистыми оболочками). Дополнительные примеры злокачественных новообразований, связанных с воспалением, приведены в Coussens LM and Werb Z. *Nature*. 2002;420(6917):860-867, который полностью включен посредством ссылки.

13. Воспаление и коагулопатии

[00489] Воспаление инициирует коагуляцию, снижает активность естественных антикоагулянтных механизмов и нарушает работу фибринолитической системы. Воспалительные цитокины являются основными медиаторами, участвующими в активации коагуляции. Было показано, что острое воспаление приводит к системной активации коагуляции. Системное воспаление приводит к активации коагуляции вследствие образования тромбина, опосредованного TF. Медиаторы в каскадах антикоагулянтов (например, тромбомодулин) снижают клеточную реакцию на медиаторы воспаления и способствуют нейтрализации некоторых медиаторов воспаления. Взаимодействие между воспалением и коагуляцией подробно описано в Esmon, C.T. *British journal of haematology* 131.4 (2005): 417-430, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[00490] Коагулопатия представляет собой патологическое состояние, при котором нарушается способность организма образовывать сгустки. У пациентов это проявляется как трудности с остановкой кровотечения, хроническое кровотечение и/или обильное кровотечение, особенно после таких испытаний, как травма, операция или роды. Коагулопатия возникает в результате снижения печеночного синтеза факторов свертывания крови и наличия диссеминированной внутрисосудистой коагулопатии (ДВС-синдрома), которая представляет собой процесс ускоренного расхода факторов свертывания крови и тромбоцитов. При ДВС-синдроме происходит нерегулируемое и чрезмерное образование тромбина и, как следствие, расход факторов свертывания крови (например, фибриногена и фактора VIII). Исследования показали, что активация воспаления в сочетании с микрососудистым тромбозом способствует полиорганной недостаточности у пациентов с тяжелой инфекцией и ДВС-синдромом. (См. Levi, M., et al., *Cardiovascular research* 60.1 (2003): 26-39, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме).

[00491] В контексте данного документа термин «коагулопатия» относится к повышенной склонности к геморрагии, которая может быть связана с любым качественным или количественным дефицитом любого прокоагулянтного компонента нормального каскада коагуляции или с любой активацией фибринолиза. Коагулопатии

можно разделить на приобретенные, врожденные и ятрогенные. Их можно диагностировать и отслеживать с помощью измерения протромбинового времени (ПВ) и частичного тромбопластинового времени (ЧТВ). В определенных вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, применимы для лечения коагулопатий (например, приобретенных коагулопатий, врожденных коагулопатий). Примеры коагулопатий, которые можно лечить с помощью антител или ADC, представленных в данном документе, включают, но не ограничиваются ими, диссеминированную внутрисосудистую коагулопатию (ДВС-коагулопатию), гемофилию А, гемофилию В, болезнь фон Виллебранда, идиопатическую тромбоцитопению, дефицит одного или более контактных факторов, таких как фактор XI, фактор XII, прекалликреин и высокомолекулярный кининоген (НММК), дефицит одного или более факторов, связанных со значительным клиническим кровотечением, таких как фактор V, фактор VII, фактор VIII, фактор IX, фактор X, фактор XIII, фактор II (гипопротромбинемия) и фактор фон Виллебранда, дефицит витамина К, нарушение, связанное с фибриногеном, включая афибриногеномию, гипофибриногеномию и дисфибриногеномию, дефицит альфа2-антиплазмина и обильные кровотечения, такие как кровотечения, вызванные заболеванием печени, заболеванием почек, тромбоцитопениями, дисфункцией тромбоцитов, гематомой, травмой, гипотермией, кровотечения во время менструации и беременности. В некоторых вариантах осуществления NASP применяют для лечения врожденных нарушений свертываемости крови, включая гемофилию А, гемофилию В и болезнь фон Виллебранда. Примеры приобретенных нарушений свертывания крови, включая дефицит фактора VIII, фактора фон Виллебранда, фактора IX, фактора V, фактора XI, фактора XII и фактора XIII, в частности, нарушения, вызванные ингибиторами или аутоиммунной реакцией на фактор свертывания крови, или нарушения гемостаза, вызванные заболеванием или патологическим состоянием, которое приводит к снижению синтеза факторов свертывания крови. Дополнительные примеры коагулопатий и способы оценки изменений коагулопатии (например, вследствие лечения антителом) представлены в заявке США № 13/721802, которая полностью включена посредством ссылки.

[00492] В определенных вариантах осуществления субъект имеет коагулопатию, и лечение антителом или ADC, предложенным в данном документе, уменьшает или улучшает один или более симптомов коагулопатии.

14. Воспалительные цитокины и хемокины

[00493] В определенных вариантах осуществления при введении субъекту антитело или ADC, предложенные в данном документе, снижают концентрацию воспалительных цитокинов или хемокинов. Воспалительные цитокины или провоспалительные цитокины представляют собой типы сигнальных молекул (цитокинов), которые секретируются иммунными клетками (например, Т-хелперами (Th), макрофагами) и способствуют воспалению. Воспалительные хемокины представляют собой небольшие цитокины или сигнальные белки, которые функционируют в основном как хемоаттрактанты для

лейкоцитов, рекрутируя моноциты, нейтрофилы и другие эффекторные клетки из крови в места инфекции или повреждения тканей. Их можно разделить на четыре основных подсемейства: CX3C, CC, CX3C и XC, все из которых являются биологически активными за счет избирательного связывания с рецепторами хемокинов, расположенными на поверхности клеток-мишеней.

[00494] В определенных вариантах осуществления при введении антитела или ADC, представленных в данном документе, антитело или ADC приводит к снижению уровня воспалительных цитокинов и хемокинов относительно исходного уровня или другого противовоспалительного средства, при этом воспалительные цитокины и хемокины представляют собой один или более из: IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN γ , GM-CSF, TNF α , CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL19, CCL20, CCL25, CXCL1, CXCL2 и CXCL10.

[00495] IL-1 α (интерлейкин 1 альфа) является членом семейства цитокинов интерлейкина 1. Это плеiotропный цитокин, участвующий в различных иммунных реакциях, воспалительных процессах и кроветворении. IL-1 α продуцируется моноцитами и макрофагами в виде пропротеина, который протеолитически процессируется и высвобождается в ответ на повреждение клеток и, таким образом, индуцирует апоптоз.

[00496] IL-1 β (интерлейкин 1 бета) является членом семейства цитокинов интерлейкина 1 и продуцируется активированными макрофагами в виде пропротеина, который протеолитически преобразуется в активную форму каспазой 1 (CASP1/ICE). IL-1 β является важным медиатором воспалительной реакции и участвует в различных видах клеточной активности, включая пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток. Обнаружено, что индукция циклооксигеназы-2 (PTGS2/COX2) этим цитокином в центральной нервной системе (ЦНС) способствует индуцированной воспалением повышенной чувствительности к боли.

[00497] IL-2 (интерлейкин 2) представляет собой цитокин, важный для пролиферации Т- и В-лимфоцитов. IL-2 является частью иммунного ответа на микробную инфекцию и различает чужеродные («чужие») и «свои». В тимусе, где созревают Т-клетки, он предотвращает аутоиммунные заболевания, способствуя дифференцировке некоторых незрелых Т-клеток в регуляторные Т-клетки, чтобы предотвратить разрушение здоровых клеток Т-клетками. Направленное разрушение аналогичного гена у мышей приводит к заболеванию, похожему на язвенный колит, что предполагает существенную роль этого гена в иммунном ответе на антигенные стимулы.

[00498] IL-4 (интерлейкин 4) представляет собой плеiotропный цитокин, продуцируемый активированными Т-клетками. Одной из функций цитокина является стимуляция пролиферации активированных В-клеток и Т-клеток, а также дифференцировка В-клеток в плазматические клетки. Присутствие IL-4 во внесосудистых тканях способствует альтернативной активации макрофагов в М2 клетки и ингибирует классическую активацию макрофагов в М1 клетки.

[00499] IL-5 (интерлейкин 5) представляет собой цитокин, который действует как

фактор роста и дифференцировки как для В-клеток, так и для эозинофилов, и он играет важную роль в регуляции образования, созревания, рекрутирования и выживания эозинофилов. Повышенный уровень IL-5 связан с патогенезом эозинофил-зависимых воспалительных заболеваний. (См. Takatsu K., Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 2011;87(8):463-485, который полностью включен посредством ссылки).

[00500] IL-6 (интерлейкин 6) представляет собой цитокин, играющий важную роль в воспалении и созревании В-клеток. Он является эндогенным пирогеном, который способен вызывать лихорадку у людей с аутоиммунными заболеваниями или инфекциями. Белок в основном вырабатывается в местах острого и хронического воспаления, где он секретируется в сыворотку и индуцирует транскрипционный воспалительный ответ через рецептор-альфа интерлейкина 6.

[00501] IL-8 (интерлейкин 8, CXCL8 или C-X-C-хемокиновый лиганд 8) представляет собой хемокин - член семейства CXC-хемокинов - и основной медиатор воспалительной реакции и мощный ангиогенный фактор. В основном он секретируется нейтрофилами, где он служит хемотаксическим фактором, направляя нейтрофилы к очагу инфекции.

[00502] IL-10 (интерлейкин 10) представляет собой цитокин, продуцируемый преимущественно моноцитами. Он оказывает плеiotропное действие на иммунорегуляцию и воспаление. Он подавляет экспрессию цитокинов Th1, Ag МНС класса II и костимулирующих молекул на макрофагах. Он также повышает выживаемость, пролиферацию В-клеток и выработку ими антител. Он также блокирует активность NF-каппа В и участвует в регуляции сигнального пути JAK-STAT. Исследования нокаута на мышцах подтвердили функцию этого цитокина в качестве основного иммунорегулятора в кишечном тракте. (См. Schreiber, S., et al., Gastroenterology 108.5 (1995): 1434-1444, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме).

[00503] IFN γ (гамма-интерферон) представляет собой растворимый цитокин, принадлежащий к классу интерферонов типа II. Он является гомодимером, который связывается с гамма-рецептором интерферона, который запускает клеточный ответ на вирусные и микробные инфекции. Мутации в гене, кодирующем IFN γ , связаны с повышенной восприимчивостью к патогенным инфекциям и рядом аутоиммунных заболеваний.

[00504] GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор) представляет собой цитокин, секретируемый макрофагами, Т-клетками, тучными клетками, естественными клетками-киллерами, эндотелиальными клетками и фибробластами. Это мономерный гликопротеин, который стимулирует стволовые клетки к продукции гранулоцитов (нейтрофилов, эозинофилов и базофилов) и моноцитов. Он также усиливает миграцию нейтрофилов. Он был признан мишенью, которая при блокировании или ингибировании уменьшает воспаление.

[00505] TNF α (фактор некроза опухоли) представляет собой многофункциональный провоспалительный цитокин, в основном секретируемый

макрофагами, который принадлежит к суперсемейству факторов некроза опухоли (TNF). Он может связываться и, таким образом, функционировать через свои рецепторы TNFRSF1A/TNFR1 и TNFRSF1B/TNFR. $\text{TNF}\alpha$ участвует в регуляции широкого спектра биологических процессов, включая клеточную пролиферацию, дифференцировку, апоптоз, метаболизм липидов и коагуляцию.

[00506] CCL2 (С-С-хемокиновый лиганд 2) является членом семейства СС-хемокинов, характеризующимся двумя соседними цистеиновыми остатками. CCL2 проявляет хемотаксическую активность в отношении моноцитов и базофилов, но не в отношении нейтрофилов или эозинофилов. Он участвует в патогенезе заболеваний, характеризующихся моноцитарными инфильтратами, таких как псориаз, ревматоидный артрит и атеросклероз.

[00507] CCL3 (С-С-хемокиновый лиганд 3 или макрофагальный воспалительный белок 1-альфа) является членом семейства СС-хемокинов. Он играет роль в воспалительных реакциях посредством связывания с рецепторами CCR1, CCR4 и CCR5. Он является хемоаттрактантом для макрофагов, моноцитов и нейтрофилов.

[00508] CCL4 (С-С-хемокиновый лиганд 4) представляет собой митоген-индуцируемый монокин, секретируемый нейтрофилами, моноцитами, В-клетками, Т-клетками, фибробластами, эндотелиальными клетками и эпителиальными клетками, и является одним из основных ВИЧ-супрессивных факторов, продуцируемых CD8^+ Т-клетками. Кодированный белок секретируется и выполняет хемотаксические и воспалительные функции.

[00509] CCL5 (С-С-хемокиновый лиганд 5) является членом семейства СС-хемокинов, характеризующимся двумя соседними цистеиновыми остатками. Этот хемокин действует как хемоаттрактант для моноцитов крови, Т-хелперов памяти и эозинофилов. Он вызывает высвобождение гистамина из базофилов и активирует эозинофилы. Этот цитокин является одним из основных ВИЧ-супрессивных факторов, продуцируемых CD8^+ клетками.

[00510] CCL19 (С-С-хемокиновый лиганд 19) является членом семейства СС-хемокинов, характеризующимся двумя соседними цистеиновыми остатками. Он играет роль в нормальной рециркуляции и хоминге лимфоцитов. Он также играет важную роль в миграции Т-клеток в тимус и в миграции Т- и В-клеток во вторичные лимфоидные органы.

[00511] CCL20 (С-С-хемокиновый лиганд 20) является членом семейства СС-хемокинов, характеризующимся двумя соседними цистеиновыми остатками. Он проявляет хемотаксическую активность в отношении лимфоцитов и может подавлять пролиферацию миелоидных клеток-предшественников.

[00512] CCL25 (С-С-хемокиновый лиганд 25) представляют собой цитокины, проявляющие хемотаксическую активность в отношении дендритных клеток, тимоцитов и активированных макрофагов, но неактивные в отношении лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови.

[00513] CXCL1 (СХС-хемокиновый лиганд 1) является членом подсемейства СХС-хемокинов, которые передают сигналы через сопряженный с G-белком рецептор, СХС-рецептор 2. CXCL1 экспрессируется макрофагами, нейтрофилами и эпителиальными клетками и обладает хемоаттрактантной активностью нейтрофилов. Аберрантная экспрессия этого белка связана с ростом и прогрессированием некоторых опухолей.

[00514] CXCL2 (С-Х-С-хемокиновый лиганд 2 или макрофагальный воспалительный белок 2-альфа) представляет собой хемокин в подсемействе СХС, который экспрессируется в местах воспаления. Он секретируется моноцитами и макрофагами и является хемотаксическим для полиморфноядерных лейкоцитов и гемопоэтических стволовых клеток.

[00515] CXCL10 (С-Х-С-хемокиновый лиганд 10) представляет собой хемокин в подсемействе СХС. Он является лигандом рецептора CXCR3. Связывание этого белка с CXCR3 приводит к плейотропным эффектам, включая стимуляцию моноцитов, миграцию естественных клеток-киллеров и Т-клеток, а также модуляцию экспрессии молекул адгезии.

[00516] Неограничивающие примеры воспалительных цитокинов и хемокинов представлены в Turner, M.D., et al. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1843.11 (2014): 2563-2582, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[00517] Воспалительные цитокины и хемокины, описанные в данном документе, можно измерить, например, с помощью иммуногистохимического анализа, твердофазного ИФА, MSD-ECLA, панелей Olink (например, пользовательских панелей Olink; Olink Proteomics, Уппсала, Швеция) или мультиплексного анализа Luminex. В качестве альтернативы уровни экспрессии воспалительных цитокинов в образцах крови можно измерить с помощью ОТ-ПЦР.

15. Терапевтические средства для сравнения лечения воспалительных заболеваний

[00518] Антитела и ADC по настоящему изобретению применимы для лечения воспалительных заболеваний. В определенных вариантах осуществления антитела и ADC, представленные в данном документе, смягчают или уменьшают симптомы или индикаторы воспалительного заболевания в большей степени, чем терапевтические средства для сравнения, другие противовоспалительные терапевтические средства (также называемые противовоспалительными средствами). Эти противовоспалительные агенты представляют собой альтернативные терапевтические средства, которые известны или показаны для лечения рассматриваемых в данном документе воспалительных заболеваний. Например, в определенных вариантах осуществления противовоспалительные средства сравнения выбраны из любого из следующего: нестероидные противовоспалительные средства (НПВП), стероидные противовоспалительные средства, бета-агонисты, антихолинергические средства, антигистаминные средства и метилксантины. В определенных вариантах осуществления противовоспалительные средства сравнения представляют собой ингибиторы IL-6

(растворимые IL-6 и IL-6R), ингибиторы GM-CSF, ингибиторы TNF α , анти-IL-1 α , дексаметазон, хемокины и антагонисты рецепторов хемокинов или ингибиторы JAK. В определенных вариантах осуществления противовоспалительное средство сравнения представляет собой циклоспорин.

[00519] Из-за роли IL-6 в воспалении и аутоиммунных заболеваниях (обсуждалось выше) IL-6 рассматривается как эффективная мишень для лечения аутоиммунных заболеваний. Неограничивающие примеры ингибиторов IL-6 включают: антитела к IL-6, антитела к рецептору IL-6, антитела к gp130, варианты IL-6, варианты рецептора IL-6, растворимые и неполные пептиды IL-6 или рецептор IL-6, а также низкомолекулярные соединения и протоны (например, авимер C326 (Nature Biotechnology (2005) 23:1556-61, которая полностью включена посредством ссылки)), демонстрирующие аналогичную активность. В синовиальной оболочке и сыворотке больных ревматоидным артритом (РА) отмечаются высокие уровни IL-6. Недавние исследования показали значительную эффективность при лечении РА ингибиторами IL-6. (См. Hennigan S., and Kavanaugh A. Ther Clin Risk Manag. 2008;4(4):767-775, который полностью включен посредством ссылки). Примеры доступных лекарственных средств-ингибиторов IL-6 включают тоцилизумаб (RoActemra, Roche) и сарилумаб (Kevzara, Sanofi).

[00520] Тоцилизумаб представляет собой рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело, ингибитор рецептора IL-6, имеющее следующие последовательности легкой и тяжелой цепей:

Легкая цепь тоцилизумаба:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHS
GVPSRFGSGSGTDFTFITSSLPEDIATYYCQQGNTLPYTFGQGKVEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYSLSS
TLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 930)

Тяжелая цепь тоцилизумаба:

QVQLQESGPGGLVRPSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRLGLEWIGYISYS
GITTYNPSLKSRTVTLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLARTTAMDYWGQGS
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 931)

[00521] Сарилумаб представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело IgG1 к IL-6R, которое связывается как с мембраносвязанными, так и с растворимыми формами рецептора интерлейкина 6 (IL-6). Он имеет следующие последовательности легкой и тяжелой цепей:

Легкая цепь сарилумаба:

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLE

SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFASYCQQANSFPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 932)

Тяжелая

цепь

сарилумаба:

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASRFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGRI
GYADSVKGRFTISRDNALNSFLQMNGLRADDTALYYCAKGRDSFDIWGQGTMTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 933)

[00522] Из-за провоспалительной функции GM-CSF были разработаны терапевтические средства, нацеленные на цитокин и ингибирующие его. Неограничивающие примеры антител, фрагментов антител, нацеленных на GM-CSF, и других антагонистов GM-CSF представлены в заявках США №№ 16/442779 и 11/944162, каждая из которых полностью включена в посредством ссылки.

[00523] Ингибиторы TNF α представляют собой агенты, которые препятствуют активности TNF α (описано выше). Они включают, без ограничения, каждое из человеческих антител к TNF α и части антител, описанные в данном документе, а также описанные в патентах США № 6090382; 6258562; 6509015, и в заявке на патент США № 09/801185 (теперь патент США № 7223394) и 10/302356, каждая из которых полностью включена посредством ссылки. В одном варианте осуществления ингибитор TNF α , используемый в изобретении, представляет собой антитело к TNF α или его фрагмент, включая инфликсимаб (Remicade®, Johnson and Johnson; описанный в патенте США № № 5656272, включенный в данный документ посредством ссылки), CDP571 (гуманизированное моноклональное антитело IgG4 к TNF-альфа), CDP 870 (фрагмент гуманизированного моноклонального антитела против TNF-альфа), dAb к TNF (Peptech), CNTO 148 (голиумаб или Simponi; Medarex и Centocor, см. международную заявку № PCT/US2001/024785, которая полностью включена в качестве ссылки) и адалимумаб (Humira® Abbott Laboratories, мкАт человека к TNF, описанный как D2E7 в патенте США № 6090382, полностью включенный посредством ссылки). Дополнительные антитела к TNF, которые можно использовать в изобретении, описаны в патентах США №№ 6593458; 6498237; 6451983; и 6448380, каждый из которых полностью включен посредством ссылки. В еще одном варианте осуществления ингибитор TNF α представляет собой слитый белок TNF, например, этанерцепт (Enbrel®, Amgen; описан в международной заявке № PCT/US1990/004001, полностью включенной посредством ссылки). В еще одном варианте осуществления ингибитор TNF α представляет собой рекомбинантный TNF-связывающий белок (r-TBP-I) (Serono). Другим примером ингибитора TNF α является цертолизумаб пегол (Cimzia).

[00524] Цертолизумаб пегол представляет собой пегилированное моноклональное антитело к фактору некроза опухоли-альфа (TNF-альфа). Иллюстративные последовательности тяжелой и легкой цепей представлены ниже:

Легкая цепь цертолизумаба пегола:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICKASQNVGTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASFL
YSGVPYRFSGSGSGDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNIYPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 934)

Тяжелая цепь цертолизумаба пегола:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYVFTDYGMNWVRQAPGKGLEWMGWIN
TYIGEPYADSVKGRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYRSYAMDYWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCAA
(SEQ ID NO: 935)

[00525] Ингибиторы IL-1 α препятствуют активности IL-1 α (описано выше). Неограничивающие примеры ингибиторов IL-1 α включают бермекимаб (MABp1 или Xilonix) и рилонацепт.

[00526] Бермекимаб (MABp1 или Xilonix) представляет собой человеческое моноклональное антитело изотипа IgG1k, нацеленное на интерлейкин-1 альфа. Иллюстративные последовательности тяжелой и легкой цепей бермекимаба представлены ниже:

Тяжелая

цепь

бермекимаба:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFSMFGVHWVRQAPGKGLEWVA AVSYDGSN
KYYAESVKGRFTISRDN SKNILFLQMDSLRL EDTAVYYCARGRPKVVIPAPLAHWGQGT
LVT FSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 936)

Легкая цепь бермекимаба:

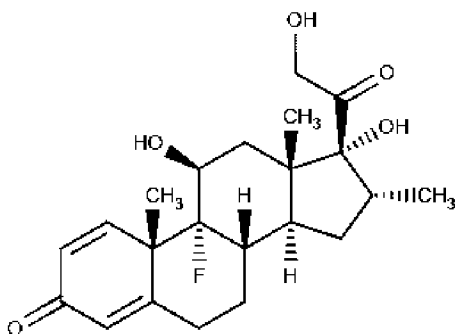
DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASNLE
TGVPSRFSGSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCQQTSSFLLSFGGGGTKVEHKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 937)

[00527] Рилонацепт представляет собой димерный слитый белок, который действует как ингибитор интерлейкина 1 и используется для лечения CAPS, также известного как криопирин-ассоциированные периодические синдромы, включая семейный холодовой аутовоспалительный синдром (FCAS) и синдром Макла-Уэллса (MWS). IL-1 α является одной из его мишеней. Иллюстративная последовательность для рилонацепта

представлена ниже:

SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIWYWTR
QDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLFWRPTLLNDTGNYTCMLRNTTYCSKVAFFLEVQ
KDSCFNSPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMGCYKIQNFNNVIPE
GMNLSFLIALISNNGNYTCVVVTPENGRTFHLTRTLTVKVVVGSPKNAVPPVIHSPNDHV
VYEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHSRTEDET
QILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVQKVPAPRYTVEKCKEREKIIILVSS
ANEIDVRPCPLNPNEHKGITITWYKDDSKTPVSTEQASRIHQHKEKLWFVPAKVEDSGHY
YCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPNLCYNAQAIFKQKLPVAGDGGGLVCPYMEFFKNENN
ELPKLQWYKDCKPLLLDNIHFGVKDRLIVMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYPITR
VIEFITLEENKPTRPVIVSPANETMEVDLGSQIQLICNVTGQLSDIAYWKWNGSVIDEDDP
VLGEDYYSVENPANKRRSTLITVLNISEIESRFYKHPFTCFANKTHGIDAAIYQLIYPVTNS
GDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID
NO: 938)

[00528] Дексаметазон, или МК-125, представляет собой кортикостероид, фторированный в положении 9, используемый для лечения эндокринных, ревматических, коллагеновых, дерматологических, аллергических, офтальмологических, желудочно-кишечных, респираторных, гематологических, неопластических, отечных и других патологических состояний. Иллюстративная структура дексаметазона представлена ниже:

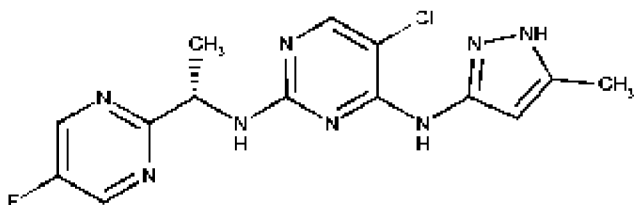


[00529] В контексте данного документа термины «антагонист хемокина» и «антагонист рецептора хемокина» относятся к лекарственному средству или молекуле, которая ингибирует, уменьшает, отменяет или блокирует связывание хемокина с одним или более родственными ему рецепторами. Неограничивающие примеры антагонистов хемокинов и антагонистов рецепторов хемокинов представлены в заявках США №№ 15/759886 и 10/996353, каждая из которых полностью включена посредством ссылки.

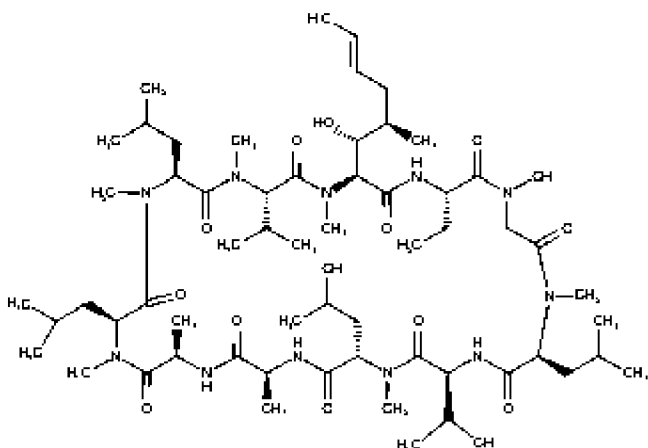
[00530] Ингибиторы JAK функционируют путем ингибирования активности одного или более ферментов семейства янус-киназ (JAK1, JAK2, JAK3, TYK2), тем самым

нарушая сигнальный путь JAK-STAT. Семейство янус-киназ (JAK) играет важную роль в зависимой от цитокинов регуляции пролиферации и действия клеток, участвующих в иммунных реакциях. Неограничивающие примеры ингибиторов JAK представлены в заявке США № 12/401348 и международной заявке № PCT/US 2017/025117, каждая из которых полностью включена посредством ссылки.

[00531] AZD1480 является мощным, конкурентным аденозинтрифосфатом, низкомолекулярным ингибитором киназы JAK2. Он использовался в исследованиях, в которых изучают лечение солидных злокачественных новообразований, истинного постполицитемического первичного миелофиброза (PMF) и эссенциального тромбоцитемического миелофиброза. Было показано, что он подавляет рост, выживаемость, а также сигналинг FGFR3 и STAT3 и нижележащие мишени, включая циклин D2, в клетках множественной миеломы человека. (См. Scuto, Anna, et al. *Leukemia* 25.3 (2011): 538-550, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме). Иллюстративная структура для AZD1480 представлена ниже:



[00532] Циклоспорин (CsA) является ингибитором кальциневрина, известным своими иммуномодулирующими свойствами, которые предотвращают отторжение трансплантата органа и лечат различные воспалительные и аутоиммунные состояния. Иллюстративная структура циклоспорина представлена ниже:



[00533] Неограничивающие примеры противовоспалительных средств включают нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), стероидные

противовоспалительные препараты, бета-агонисты, холинолитики, антигистаминные препараты (например, этаноламины, этилендиамины, пиперазины и фенотиазин) и метилксантины. Примеры НПВП включают, но не ограничиваются ими, аспирин, ибупрофен, салицилаты, ацетоминофен, цефекоксид, диклофенак, этодолак, фенпрофен, индометацин, кеторолак, оксaproзин, набуфен, сулиндак, толметин, рофекоксид, напроксен, кетопрофен и набуметон. Такие НПВП действуют путем ингибирования фермента циклооксигеназы (например, COX-1 и/или COX-2). Примеры стероидных противовоспалительных препаратов включают, но не ограничиваются ими, глюкокортикоиды, дексаметазон, кортизон, гидрокортизон, преднизон, преднизолон, триамцинолон, азульфидин и эйкозаноиды, такие как простагландины, тромбоксаны и лейкотриены.

16. Комбинированные терапии

[00534] В некоторых вариантах осуществления антитело или ADC, предложенные в данном документе, вводят с по меньшей мере одним дополнительным терапевтическим агентом. Любой подходящий дополнительный терапевтический агент можно вводить с антителом или ADC, предложенными в данном документе. В некоторых аспектах дополнительный терапевтический агент выбран из радиоизотопа, цитотоксического агента, химиотерапевтического агента, цитостатического агента, антигормонального агента, иммуностимулирующего агента, иммуносупрессивного агента, противовоспалительного агента, антиангиогенного агента, и их комбинаций.

[00535] Дополнительный терапевтический агент можно вводить любыми подходящими способами. В некоторых вариантах осуществления антитело или ADC, предложенные в данном документе, и дополнительный терапевтический агент включены в одну и ту же фармацевтическую композицию. В некоторых вариантах осуществления антитело или ADC, предложенные в данном документе, и дополнительный терапевтический агент включены в разные фармацевтические композиции.

[00536] В вариантах осуществления, в которых антитело или ADC, предложенные в данном документе, и дополнительный терапевтический агент включены в различные фармацевтические композиции, введение антитела или ADC может происходить до, одновременно и/или после введения дополнительного терапевтического агента.

17. Способы диагностики

[00537] Также предложены способы обнаружения присутствия TF на клетках субъекта. Такие способы можно использовать, например, для прогнозирования и оценки реакции на лечение антителом или ADC, предложенным в данном документе.

[00538] В некоторых вариантах осуществления способ можно использовать для обнаружения TF у субъекта, имеющего или подозреваемого в наличии воспалительного заболевания. В некоторых вариантах осуществления способы включают (а) получение образца от субъекта; и (б) обнаружение присутствия или уровня TF в образце путем приведения в контакт образца с антителом, предложенным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают (а) введение субъекту антитела,

предложенного в данном документе; и (b) обнаружение присутствия или уровня TF у субъекта. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой любой из колитов, воспалительных заболеваний кишечника, артритов, острого повреждения легких (ОПЛ), острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и респираторно-синцитиального вируса (РСВ). В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание включает васкулярное воспаление.

[00539] В некоторых вариантах осуществления способы включают (a) введение субъекту ADC, предложенного в данном документе; и (b) обнаружение присутствия или уровня TF у субъекта. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание представляет собой любой из колитов, воспалительных заболеваний кишечника, артритов, острого повреждения легких (ОПЛ), острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и респираторно-синцитиального вируса (РСВ).

[00540] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, конъюгировано с флуоресцентной меткой. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, конъюгировано с радиоактивной меткой. В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в данном документе, конъюгировано с ферментной меткой.

[00541] В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенное в данном документе, содержит флуоресцентную метку. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенное в данном документе, содержит радиоактивную метку. В некоторых вариантах осуществления ADC, предложенное в данном документе, содержит ферментную метку.

[00542] В некоторых вариантах осуществления определяют относительное количество TF, экспрессируемого такими клетками. Долю клеток, экспрессирующих TF, и относительное количество TF, экспрессируемого такими клетками, можно определить любым подходящим методом. В некоторых вариантах осуществления для проведения таких измерений используют проточную цитометрию. В некоторых вариантах осуществления для проведения такого измерения используют сортировку флуоресцентно активируемых клеток (FACS).

18. Наборы

[00543] Также предложены наборы, содержащие антитела или ADC, предложенные в данном документе. Наборы можно использовать для лечения, профилактики и/или диагностики заболевания или нарушения, как описано в данном документе.

[00544] В некоторых вариантах осуществления набор содержит контейнер и этикетку или вкладыш в упаковку на контейнере или связанную с ним. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы и пакеты с раствором для внутривенного введения. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. Контейнер содержит композицию, которая сама по себе или в сочетании с другой композицией эффективна для лечения, предотвращения и/или диагностики заболевания или нарушения. Контейнер может иметь стерильный порт

доступа. Например, если контейнер представляет собой пакет с раствором для внутривенного введения или флакон, он может иметь порт, который можно проткнуть иглой. По меньшей мере, один активный агент в композиции представляет собой антитело или ADC, предложенные в данном документе. На этикетке или на листке-вкладыше в упаковку указано, что композицию применяют для лечения выбранного патологического состояния.

[00545] В некоторых вариантах осуществления набор включает (a) первый контейнер с первой композицией, содержащейся в нем, причем первая композиция содержит антитело или ADC, предложенные в данном документе; и (b) второй контейнер со второй композицией, содержащейся в нем, причем вторая композиция содержит дополнительный терапевтический агент. Набор в этом варианте осуществления может дополнительно содержать вкладыш в упаковку, указывающий, что композиции можно использовать для лечения определенного патологического состояния.

[00546] Альтернативно или дополнительно набор может дополнительно содержать второй (или третий) контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых аспектах эксципиент представляет собой буфер. Набор может дополнительно содержать другие материалы, желательные с коммерческой точки зрения и с точки зрения пользователя, включая фильтры, иглы и шприцы.

Примеры

[00547] Ниже приведены примеры способов и композиций по данному изобретению. Понятно, что различные другие варианты осуществления могут быть реализованы на практике, учитывая общее описание, представленное в данном документе.

[00548] Ниже приведены примеры конкретных вариантов осуществления данного изобретения. Примеры являются исключительно иллюстративными и никоим образом не подразумевают ограничения объема данного изобретения. Были приняты меры для того, чтобы сохранить точность в отношении используемых чисел (например, количеств, значений температуры и т. д.), однако следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения.

[00549] В практике по настоящему изобретению будут использоваться, если не указано иное, стандартные методов химии, биохимии белков, рекомбинантных ДНК и фармакологии в пределах квалификации в данной области техники. Такие технологии подробно описаны в литературе. См., например, T.E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* (W.H. Freeman and Company, 1993); A.L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Edition, 1989); *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg *Advanced Organic Chemistry* 3rd Ed. (Plenum Press) Vols A and B(1992).

Пример 1. Получение антител к TF

[00550] Фрагменты внеклеточного домена TF (ECD) человека, яванского макака и

мыши экспрессировали в виде слитых С-концевых фрагментов His или Fc. Клетки Expi293 (ThermoFisher Scientific, Волтам, штат Массачусетс, США) были временно трансфицированы в соответствии с рекомендациями производителя с pcDNA3.1V5-HisA (ThermoFisher Scientific), кодирующим TF человека, яванского макака или мыши ECD-His6 (TF-His; SEQ ID NO: 811, 815 и 819, соответственно) или pFUSE-hIgG1-Fc (Invivogen, Сан Диего, штат Калифорния, США) кодирующим ECD - Fc TF человека, яванского макака или мыши (TF-Fc; SEQ ID NO: 812, 816 и 820, соответственно). Для белков, меченных His, супернатанты клеточной культуры, очищенные от клеток центрифугированием, предварительно кондиционировали 330 мМ хлоридом натрия и 13,3 мМ имидазолом. Используя рекомендованные процедуры, белки TF-His6 и TF-Fc очищали с помощью аффинной хроматографии на колонке HisTrap HP и MabSelect SuRe (GE Healthcare Bio-Sciences, Мальборо, штат Массачусетс, США) соответственно. FVII-Fc, экспрессируемый в Expi293, очищали аффинной хроматографией на колонке MabSelect SuRe с последующей эксклюзионной хроматографией. Белки TF-His6 и TF-Fc биотинилировали с 15-кратным молярным избытком Sulfo-NHS-SS-биотина, как рекомендовано (ThermoFisher Scientific). Немеченные и биотинилированные белки дополнительно очищали эксклюзионной хроматографией с использованием колонки Superdex 200 Increase 10/300 (GE Healthcare Bio-Sciences).

[00551] Антитела человека к TF человека были получены путем презентации антител на основе дрожжей Adimab TM с использованием биотинилированных рекомбинантных белков TF в качестве скрининговых антигенов, как описано ниже. Все антитела против к TF человека оценивали на перекрестную реактивность с TF яванского макака и мыши. Связывающая активность антител к TF человека, яванского макака и мыши представлена в **Таблице 5**.

[00552] I. Методология запросов и выбора библиотеки для выделения антител к TF

[00553] *Выбор наивной библиотеки*

[00554] Восемь наивных библиотек синтетических дрожжей человека, каждая из которых содержит $\sim 10^9$ вариантов, были разработаны, созданы и размножены, как описано ранее в (see, e.g., WO2009036379; WO2010105256; WO2012009568; Xu et al., Protein Eng Des Sel., 2013, 26(10):663-70). Было выполнено восемь параллельных отборов с использованием восьми наивных библиотек для отбора мономерных TF человека.

[00555] Для первых двух раундов отбора была использована методика сортировки магнитных частиц с использованием системы Miltenyi MACS, как по существу описано в (Siegel et al., J Immunol Methods, 2004, 286(1-2):141-53). Вкратце, дрожжевые клетки ($\sim 10^{10}$ клеток/библиотека) инкубировали с 10 нМ слитого антигена биотинилированный TF человека-Fc в течение 15 минут при комнатной температуре в промывочном буфере FACS PBS с 0,1% BSA. После однократной промывки 50 мл ледяного промывочного буфера осадок клеток ресуспендировали в 40 мл промывочного буфера и к дрожжам добавляли 500 мкл микрочастиц со стрептавидином (Miltenyi Biotec, Бергиш-Гладбах, Германия; кат. № 130-048-101) и инкубировали в течение 15 мин при 4°C. Затем дрожжи осаждали,

ресуспендировали в 5 мл промывочного буфера и загружали в колонку MACS LS (Miltenyi Biotec, Бергиш-Гладбах, Германия; кат. № 130-042-401). После загрузки 5 мл, колонку промывали 3 раза 3 мл промывочного буфера FACS. Колонку затем удаляли из магнитного поля и дрожжи элюировали 5 мл питательной среды и затем выращивали в течение ночи.

[00556] После двух раундов MACS были выполнены следующие четыре раунда сортировки с использованием проточной цитометрии (FACS). Для первого раунда FACS осаждали приблизительно 5×10^7 дрожжей, трижды промывали промывочным буфером и инкубировали с 10 нМ каждого слитого белка биотинилированный Fc-антиген TF мыши и/или яванского макака в течение 10-15 мин при комнатной температуре. Затем дрожжи дважды промывали и окрашивали LC-FITC, разведенным 1:100 (Southern Biotech, Бирмингем, штат Алабама; каталожный номер 2062-02), либо SA-633 (Life Technologies, Гранд-Айленд, штат Нью-Йорк; кат. № S21375), разведенным 1:500 или EA-PE (Sigma-Aldrich, Сент-Луис; кат. № E4011), разбавленный 1:50, вторичные реагенты в течение 15 минут при 4 °C. После двукратной промывки ледяным промывочным буфером осадки клеток ресуспендировали в 0,4 мл промывочного буфера и переносили в сортирующие пробирки с сетчатым колпачком. Сортировку выполняли с использованием сортировщика FACS ARIA (BD Biosciences), и определяли сортировочные гейты для отбора связанных TF образцов. Популяции, отобранные мышами и яванским макаками из первого раунда FACS, были выращены и размножены путем субкультивирования в селективных средах. Второй, третий и четвертый раунды FACS включали положительные сортировки для обогащения связывающими TF и/или отрицательные сортировки для уменьшения количества неспецифических связывающих веществ с использованием растворимых мембранных белков из клеток CHO (см., например, WO2014179363 и Xu et al., PEDS, 2013, 26(10):663-70). После последнего раунда сортировки дрожжи высевали и секвенировали.

[00557] *Созревание аффинности клонов, идентифицировали при наивном отборе*

[00558] Тяжелые цепи из исходных продуктов (описанных выше) использовали для получения библиотек диверсификации легких цепей, которые затем использовали для дополнительных раундов отбора. В частности, вариабельные области тяжелой цепи были извлечены из выходов четвертого раунда первичного отбора и преобразованы в библиотеку легких цепей с разнообразием, равным 1×10^6 .

[00559] В первом раунде отбора в качестве антигена использовали гранулы Miltenyi MACS и 10 нМ слитый белок биотинилированный Fc-TF человека. После отбора гранул MACS проводили три раунда FACS-сортировки, как описано выше, с использованием TF яванского макака и мыши, слитого с Fc, в концентрации 10 нМ или либо биотинилированных антигенов TF, слитых с Fc, либо биотинилированных мономерных HIS-форм TF человека, мыши или яванского макака. Секвенировали отдельные колонии из каждого раунда отбора FACS.

[00560] *Оптимизация перспективных клонов, выявленных в результате выбора*

наивных вариантов или вариантов диверсификации легкой цепи

[00561] Оптимизацию перспективных клонов проводили с использованием трех стратегий созревания: диверсификация CDR-H1 и CDR-H2; диверсификация CDR-H3 после оптимизации пула разнообразия CDR-H1 и CDR-H2; и диверсификация CDR-L3 в выбранных пулах разнообразия CDR-L1 и CDR-L2.

[00562] Отбор CDR-H1 и CDR-H2: CDR-H3 из клонов, выбранных с помощью процедуры диверсификации либо наивной, либо легкой цепи, рекомбинировали в предварительно созданную библиотеку с вариантами CDR-H1 и CDR-H2 с разнообразием 1×10^8 , а отбор осуществляли с использованием биотинилированного Fc-слитого антигена TF яванского макака, биотинилированного антигена HIS-TF яванского макака и/или биотинилированного HIS-TF человека. Давление аффинности применялось с использованием уменьшающихся концентраций биотинилированных антигенов HIS-TF (до 1 нМ) в условиях равновесия при комнатной температуре.

[00563] Отбор CDR-H3/CDR-H1/CDR-H2: Олиго были заказаны в IDT, которые включали CDR-H3, а также гомологичные фланкирующие области по обе стороны от CDR-H3. Позиции аминокислот в CDR-H3 варьировали за счет разнообразия NNK в двух положениях на олигонуклеотид по всей CDR-H3. Олиго CDR-H3 были двухцепочечными с использованием праймеров, которые отжигались с фланкирующей областью CDR-H3. Оставшиеся FR1-FR3 варибельной области тяжелой цепи амплифицировали из пулов антител с улучшенной аффинностью, которые были выделены из разнообразия CDR-H1 и CDR-H2, выбранных выше. Затем создавали библиотеку путем трансформации двухцепочечного олигонуклеотида CDR-H3, объединенных фрагментов FR1 в FR3 и вектора экспрессии тяжелой цепи в дрожжи, уже содержащие легкую цепь родителя. Отбор производился, как и в предыдущих циклах, с использованием сортировки FACS. Раунды FACS оценивали неспецифическое связывание, перекрестную реактивность видов и давление аффинности, а также проводили сортировку для получения популяций с желаемыми характеристиками. Давление аффинности для этих выборов выполняли, как описано выше для выбора CDR-H1 и CDR-H2.

[00564] Отбор CDR-L3/CDR-L1/CDR-L2: Олиго были заказаны в IDT, которые включали CDR-L3, а также гомологичные фланкирующие области по обе стороны от CDR-L3. Позиции аминокислот в CDR-L3 варьировали за счет разнообразия NNK в одном положении на олигонуклеотид по всей CDR-L3. Олиго CDR-L3 были двухцепочечными с использованием праймеров, которые отжигались с фланкирующей областью CDR-L3. Оставшиеся FR1-FR3 варибельной области легкой цепи амплифицировали из пулов антител с улучшенной аффинностью, которые были выделены из разнообразия CDR-L1 и CDR-L2, выбранных выше. Затем создавали библиотеку путем трансформации двухцепочечного олигонуклеотида CDR-L3, объединенных фрагментов FR1 в FR3 и вектора экспрессии легкой цепи в дрожжи, уже содержащие тяжелую цепь родителя. Отбор производился, как и в предыдущих циклах, с использованием сортировки FACS. Раунды FACS оценивали неспецифическое связывание, перекрестную реактивность видов

и давление аффинности, а также проводили сортировку для получения популяций с желаемыми характеристиками. Давление аффинности включало титрование, а также включение исходного Fab в предварительное комплексообразование антигена.

[00565] II. Получение и очистка IgG и Fab

[00566] Чтобы произвести достаточное количество выбранных антител для дальнейшей характеристики, клоны дрожжей выращивали до насыщения, а затем индуцировали в течение 48 ч при 30°C при встряхивании. После индукции дрожжевые клетки осаждали и супернатанты собирали для очистки. IgG очищали с использованием колонки с белком А и элюировали уксусной кислотой, pH 2,0. Fab-фрагменты были получены путем ферментативного расщепления папаином и очищены с использованием аффинной матрицы CaptureSelect IgG-CH1 (LifeTechnologies, кат. № 1943200250).

Пример 2. Влияние антитела к TF в модели индуцированного DSS колита

[00567] Было проведено исследование *in vivo* для определения влияния антитела к TF (например, 43D8) на конечные точки воспаления в модели колита. Клон 43D8 использовали в этом и следующих примерах в качестве заменителя других антител к TF, описанных в данном документе, поскольку он обладает перекрестной реактивностью с мышинным TF и связывается с мышинным TF с высокой аффинностью. См., например, таблицу 5.

[00568] В модели колита введение декстрансульфата натрия (DSS) вызывает колитоподобные патологии из-за токсичности для эпителиальных клеток толстой кишки, что приводит к нарушению функции слизистой оболочки и инфильтрации нейтрофилов, макрофагов и лимфоцитов. Это приводит к потере функции эпителиального барьера, секреции провоспалительных цитокинов и хемокинов и притоку клеток с цитотоксическим потенциалом, таких как нейтрофилы и воспалительные макрофаги. В данной области техники он не считается процессом, опосредованным Т-клетками.

[00569] В день 0 исследования 8-12-недельные самцы мышей C57BL/6 получали либо стерильную воду без ограничений (группа 1, n=5), либо 2,5% (масса/объем) DSS, растворенного в стерильной воде без ограничений (группы 2-5, n=10 мышей в группе). В 0 день и 4 день мыши из групп 2, 4 и 5 получали следующие дозы (внутривенно):

Группа 2: носитель (PBS)

Группа 4: исследуемое соединение в дозе 3 мг/кг

Группа 5: исследуемое соединение в дозе 10 мг/кг

Исследуемое соединение представляло собой антитело к TF 43D8.

[00570] Также, начиная с 0 дня по 10 день, мышам в группе 3 вводили один раз в день через зонд циклоспорин в качестве положительного контроля (CsA) в дозе 80 мг/кг (Неорал). На 8-й день все животные получали стерильную воду до конца эксперимента и были подвергнуты эвтаназии на 10-й день.

[00571] На протяжении всего исследования клинические наблюдения проводились ежедневно. Массу тела измеряли и регистрировали ежедневно (с 0 дня по 10 день). Физическое состояние также ежедневно оценивали визуально, используя систему оценки,

показанную на **Фиг. 2**. Качественно определяли консистенцию стула и ежедневно определяли кровь в стуле с помощью теста на скрытую кровь в стуле. В **таблицах 50, 60 и 61** показаны системы оценки, используемые для оценки консистенции стула, крови в стуле (скрытой крови) и изменений массы тела по сравнению с исходными уровнями (0 день). Оценку консистенции стула, оценку стула на кровь и оценку массы объединяли для получения индекса активности болезни для каждого субъекта во время измерения. В **таблице 62** показана комбинированная система оценки, определяющая индекс активности болезни.

Таблица 50 Оценка консистенции стула

Оценка	0	1	2	3
Наблюдение	нормальный	влажный/липкий стул	мягкий стул	диарея

Таблица 60 Оценка стула на кровь

Оценка	0	1	2	3
Результат гемокульт- теста	отрицательный гемокульт- тест, отсутствие крови	положительный гемокульт-тест через >30 секунд	положительный гемокульт-тест через <30 секунд	видимая на предметном стекле кровь

Таблица 61 Оценка массы

Оценка	0	1	2	3	4
Потеря массы по сравнению с исходным уровнем	0%	1-5%	6-10%	11-15%	16% или выше

Таблица 62 Балл индекса активности болезни (DAI), который представлял собой комбинацию оценки консистенции стула, оценки крови стула, оценки массы тела.

Оценка	Оценка консистенции стула	Оценка стула на кровь	Потеря массы
0	Нормальная	отрицательный гемокульт-тест, отсутствие крови	0%
1	влажный/липкий стул	положительный гемокульт-тест через >30 секунд	1-5%
2	мягкий стул	положительный	6-10% потеря

		гемокульт-тест через <30 секунд	массы
3	диарея	видимая на предметном стекле кровь	11-15% потеря массы
4	Н/Д	Н/Д	16% или выше

[00572] После эвтаназии животное измеряли (определяли длину) и взвешивали. Соотношение массы и длины рассчитывали для каждого животного. Животных вскрывали и определяли массу их селезенки. Для каждого животного толстую кишку «скручивали» и помещали в 10% нейтральный забуференный формалин (NBF) на 24 часа, а затем в 70% этанол. Образцы фиксированной толстой кишки подготавливали в лаборатории. Образцы заливали в парафин, делали срезы толщиной 5 микрон и окрашивали предметные стекла гематоксилином и эозином (H&E) для гистологического анализа.

[00573] Результаты показали значительную и раннюю потерю массы (потеря массы ~20% по сравнению с исходным уровнем) к 4 дню для животных группы 3, получавших CsA. Потеря массы была сопоставима для контрольной группы, получавшей носитель, (группа 2) и групп 4 и 5 в течение первых 5 дней. Затем, между 5 и 10 днем, животные, получавшие носитель, потеряли в массе значительно больше, чем животные в группах 4 и 5. Результаты демонстрируют, что лечение антителом к TF, 43D8, приводит к меньшей потере массы по сравнению с исходным уровнем, чем лекарственное средство для сравнения. Они также указывают на то, что лечение антителом к TF приводит к меньшей потере массы, чем в отсутствие лечения (**Фиг. 3**).

[00574] Активность болезни также анализировали с использованием вышеописанных показателей. Животные в группе 5 (получавшие 10 мг/кг 43D8) имели более низкую (ближе к норме) оценку активности болезни, чем животные в контрольной группе, получавшей носитель, (**Фиг. 4**). Не наблюдалось влияния на активность болезни в контрольной группе, получавшей носитель, или в группе, получавшей 3 мг/кг 43D8. В целом, эти результаты продемонстрировали, что лечение антителом к TF приводит к более нормальной консистенции стула, меньшему количеству обнаруживаемой крови и меньшей потере массы, чем наблюдалось бы при отсутствии лечения.

[00575] Результаты оценки физического состояния не выявили изменений в состоянии тела мышей в исследовании до 7-го дня, после чего у мышей группы 2 CsA наблюдалось наиболее значительное ухудшение состояния тела. Только в наивной группе физическое состояние сохранялось на уровне 3 (нормальное, хорошее состояние) на протяжении всего исследования. В группе 5 наблюдалось наименьшее снижение оценки физического состояния, за ней следовала группа 4 (**Фиг. 5**). Результаты демонстрируют, что лечение антителом к TF улучшает физическое состояние по сравнению с лечением лекарственным средством для сравнения и по сравнению с физическим состоянием, которое было бы в случае отсутствия лечения.

[00576] Результаты измерения массы селезенки показали дозозависимое снижение

массы селезенки в группах, получавших 43D8, по сравнению с контролем, получавшим носитель (**Фиг. 6**). Эти результаты свидетельствуют о том, что лечение антителами к TF может реверсировать или уменьшить увеличение селезенки, которое часто наблюдается при воспалительных заболеваниях. Результаты также указывают на системный противовоспалительный эффект антитела к TF.

Пример 3. Влияние антитела к TF в модели индуцированного DSS колита

[00577] Было проведено еще одно исследование *in vivo* для определения влияния антитела к TF (например, 43D8) на конечные точки воспаления в модели колита. Методы исследования были такими же, как и в **Примере 2**, однако концентрация DSS, используемая для индукции колита, и конечный день для исследования и контроля были изменены.

[00578] Вкратце, в день исследования 0 самцы мышей C57BL/6 в возрасте 8-12 недель получали либо стерильную воду без ограничений (группа 1, n=5), либо 3% DSS, растворенный в стерильной воде без ограничений (группы 2-5, n=10 мышей в группе). В 0 день и в 4 день мыши из групп 4, 5 и 6 получали две дозы изотипа, мкАт 43D8 или мкАт к IL-6 мыши. Также, начиная с 0 дня по 10 день, мышам в группах 2 и 3 вводили один раз в день через зонд носитель или циклоспорина (CsA) в качестве положительного контроля в дозе 80 мг/кг (Неорал, n=10). На 8 день всех животных подвергали эвтаназии. План эксперимента приведен в **таблице 67**, а временные точки и график показаны на **Фиг. 13**. Конечными точками исследования были масса тела, балл по DAI, плотность толстой кишки (ширина/длина), масса селезенки и гистопатология.

Таблица 67 Экспериментальный дизайн для модели DSS

Группа	N	Исследуемые соединения	Лечение (мг/кг)	Систематическое дозирование	
				Путь введения	Частота
1	5	Наивная (без DSS)	Н/Д	Н/Д	Не анализирован
2	10	Носитель	Н/Д	п/о	Один раз в день (р/день)
3	10	CsA	50	п/о	Один раз в день (р/день)
4	10	Изотипическое антитело	10	в/б	Дважды (0 день и 4 день)
5	10	мкАт 43D8	10	в/б	Дважды (0 день и 4 день)
6	10	мкАт к IL-6	10	в/б	Дважды (0 день и 4 день)

*в/б= внутрибрюшинное введение; п/о= пероральное введение

[00579] Результаты измерения массы тела, балл по DAI, плотность толстой кишки (соотношение массы толстой кишки/длины) и измерения массы селезенки показаны на **Фиг. 14, 15, 16, и 17**, соответственно.

[00580] Результаты показали задержку потери массы тела на 5 день и в более поздние сроки у мышей группы 5 (получавших мкАт 43D8) по сравнению с контрольными животными, получавшими носитель и изотип, и мышами, получавшими мкАт к IL-6. Задержка в потере массы была очень значимой по сравнению с контрольными мышами, получавшими носитель, к 6 дню (**Фиг. 14**).

[00581] Результаты показали значительное улучшение балла по DAI по сравнению с контрольными мышами, получавшими носитель, к 3 дню. Балл DAI также был ниже у мышей группы 5 по сравнению с мышами группы 6 (мкАт к IL-6) к 4 дню (**Фиг. 15**).

[00582] Результаты показали значительное улучшение плотности толстой кишки у мышей группы 5 по сравнению с контрольными мышами, получавшими носитель. К концу исследования у мышей группы 5 также наблюдалась более низкая плотность толстой кишки, чем у мышей группы 6 (**Фиг. 16**).

[00583] Никаких существенных различий в массе селезенки между группами в конце исследования не наблюдалось (**Фиг. 17**).

Пример 4: Влияние антитела к TF в модели индуцированного TNBS колита

[00584] Было проведено исследование *in vivo* для определения влияния антитела к TF (например, 43D8) на конечные точки воспаления в модели индуцированного TNBS колита.

[00585] В этой модели колита введение 2,4,6-тринитробензолсульфокислоты (TNBS) вызывает колитоподобные патологии. В целом модель TNBS характеризуется более очаговым поражением толстой кишки, чем модель индуцированного DSS колита. Это приводит к трансмуральному колиту, в основном обусловленному TH1-опосредованным иммунным ответом, и характеризуется инфильтрацией собственной пластинки CD4⁺ Т-клетками, нейтрофилами и макрофагами. Анти-IFN γ , анти-IL-12p40 показали эффективность лечения в моделях TNBS.

[00586] Способы получения модели индуцированного TNBS колита известны специалистам в данной области техники. См., например, Antoniou, Efsthios, et al. *Annals of medicine and surgery* 11 (2016): 9-15, соответствующее описание которой включено в данный документ посредством ссылки.

[00587] Эффект анти-TF оценивали на модели индуцированного TNBS колита, в которой животные получали инъекцию 2% TNBS внутрь толстой кишки, чтобы вызвать колит (n=10 мышей/группу). Клинические наблюдения, массу тела и оценку DAI проводили ежедневно. Животных обрабатывали антителом к TF (например, 43D8), контролем-носителем или изотипическим контролем. Дополнительная группа получала месаламин в качестве положительного контроля. Введение антитела к TF (например, 43D8) не показало эффекта по сравнению с контролем. Возможно, что введение антитела

к TF в модели TNBS не приводило к каким-либо эффектам, потому что модель TNBS представляет собой модель с преобладанием Т-клеток. В данной области техники известно, что TF экспрессируется на активированных миелоидных клетках, но не на Т-клетках.

Пример 5. Влияние антитела к TF в модели острого повреждения легких

[00588] Исследование *in vivo* было проведено для оценки влияния антитела к TF (например, 43D8) на конечные точки воспаления в модели острого повреждения легких, индуцированного липополисахаридом (ЛПС). Острое повреждение легких (ОПЛ) и его наиболее тяжелое проявление, острый респираторный дистресс-синдром (ARDS), представляет собой клинический синдром, определяемый острой гипоксической дыхательной недостаточностью, двусторонними легочными инфильтратами, соответствующими отеку, и нормальным давлением наполнения сердца.

[00589] Для этого исследования 48 самцов мышей BALB/c были случайным образом и проспективно разделены на пять групп: группа из шести (n=6), группа из двенадцати (n=12) и три группы из десяти (n=10 в группе) животных в каждой. В 0 день животным в группах 2-5 вводили дозы в соответствии с **таблицей 63** за 60 минут до введения ЛПС. Дексаметазон (3 мг/кг) снова вводили в день 1 (через 24 часа после ЛПС) животным группы 3 (положительный контроль). Всех животных анестезировали изофлураном, и как только каждое животное переставало реагировать на ущемление за палец, животному вводили интраназально 10 мкг ЛПС интраназально (и/н) в 25 мкл (только группы 2-5) или солевой раствор в качестве контроля (Группа 1). Затем животных выпускали в клетку для восстановления до тех пор, пока они не проснутся.

Таблица 63 Экспериментальный дизайн для исследования ОПЛ. ТА обозначает исследуемое соединение (антитело 43D8).

Группа	Кол-во животных	ЛПС (и/н) 0 день (0 ч)	Лечение	Доза	Путь введения	График введения доз	Конечная точка/терминальный сбор (48 часов)
1	6	Солевой раствор	--	--	--	--	1. Кровь (плазма) 2. Легкие (сбор образцов) Жидкость БАЛ: Дифференциальный подсчет, Общий белок Гистология легких: Окрашивание H&E
2	12	10 мкг	Носитель	--	в/б	-1 ч	
3	10		Дексаметазон	3 мг/кг	в/б	-1 ч, 24 ч	

4	10			1 мг/ кг	в/б	-1 ч	Ткань легкого: мгновенно замороженная
5	10		ТА №1	10 мг/ кг	в/б	-1 ч	

[00590] Всех животных ежедневно взвешивали и оценивали на наличие респираторного дистресса (определяемого как увеличение частоты дыхания и/или явное дыхательное усилие). Животных с тяжелым респираторным дистресс-синдромом или животных, потерявших более 20% исходной общей массы тела, подвергали эвтаназии в течение 2 часов после наблюдения.

[00591] Через 48 часов после стимуляции ЛПС всех животных умерщвляли передозировкой ксилазина и проводили бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) только правого легкого (путем перевязывания левого легкого) для общего и дифференциального подсчета клеток, а также общего белка. количественный анализ и количественный анализ цитокинов с помощью Lumineх. Затем легкие взвешивали (общую массу легкого и массу правого легкого). Правое легкое замораживали в жидком азоте и хранили при -80°C. Левую долю легкого инсуффлировали 10% NBF, фиксировали в 10% NBF в течение 24 часов, затем переводили на PBS и затем подготавливали для гистологии. Фиксированное формалином легкое заливали парафином, делали срезы толщиной 5 микрон и предметные стекла окрашивали гематоксилином и эозином (H&E). Все предметные стекла оценивались сертифицированным ветеринарным патологоанатомом, который использовал систему подсчета баллов для оценки степени повреждения легких и воспаления. В **таблице 64** и **таблице 65** показана система оценки лейкоцитарной инфильтрации.

Таблица 64 Гистопатологическая оценка интерстициальной или альвеолярной нейтрофильной инфильтрации в модели ОПЛ

Оценка	Интерстициальная или альвеолярная нейтрофильная инфильтрация
0	отсутствует
1	минимальная (поражено <10% образца)
2	легкая (поражено 10-25% образца)
3	умеренная (поражено 26-50% образца)
4	выраженная (поражено 51-75% образца)
5	тяжелая (поражено >75% образца)

Таблица 65 Гистопатологическая оценка мононуклеарной клеточной инфильтрации/агрегации в периваскулярной/перибронхиолярной зонах

Оценка	Интерстициальная или альвеолярная нейтрофильная инфильтрация
0	отсутствует

1	минимальная (очаговый инфильтрат или рассеянные инфильтрирующие клетки)
2	легкая (многоочаговый инфильтрат или образование мелких агрегатов)
3	умеренная (многоочаговое образование агрегатов)
4	выраженная (большинство кровеносных сосудов/бронхиол окружено агрегатами)
5	тяжелая (все кровеносные сосуды/бронхиолы окружены крупными и сливающимися агрегатами)

[00592] Результаты по массе тела показали наибольшую потерю массы тела в группе, получавшей 1 мг/кг 43D8. Контрольная группа с носителем и группа 4 (1 мг/кг 43D8) имели сравнимую потерю массы в процентах к концу исследования (потеря массы ~6% по сравнению с исходным уровнем). Напротив, в группе положительного контроля (дексаметазон) в конце исследования наблюдалась только около 2% потери массы по сравнению с исходным уровнем. Группа 5 (принимавшая 10 мг/кг) продемонстрировала меньшую потерю массы, чем контрольная группа, получавшая носитель, но большую потерю массы, чем положительный контроль (**Фиг. 7**). Результаты демонстрируют, что у субъекта с ОПЛ лечение антителом к TF (43D8) может привести к меньшей потере массы, чем без лечения (защитный эффект в отношении потери массы тела). Результаты также указывают на то, что антитело к TF противодействует потере массы дозозависимым образом.

[00593] Результаты дифференциального подсчета клеток БАЛ показали, что обработка антителом к TF (43D8) приводила к более низкому общему количеству лейкоцитов, чем положительный контроль и контроль носителем. Общее количество макрофагов в группе 4 (1 мг/кг 43D8) не было значительно ниже, чем в контроле носителем, однако общее количество макрофагов в группе 5 (10 мг/кг 43D8) было ниже, чем в контроле носителем (а также положительном контроле). Общее количество лимфоцитов и общее количество нейтрофилов в группах 4 и 5 были ниже, чем у их соответствующих контролей носителем, и снижение их количества зависело от дозы. Напротив, общее количество эозинофилов в группах 4 и 5 было значительно выше, чем в контрольной группе, получавшей носитель. В целом, результаты показали снижение инфильтрата лимфоцитов, макрофагов и нейтрофилов в жидкости БАЛ в группах, получавших 43D8, и это снижение было сравнимым или лучше, чем в положительном контроле (дексаметазон) (**Фиг. 8А и 8В**).

[00594] Для гистопатологического анализа в группе 5 (10 мг/кг 43D8) наблюдалось небольшое снижение нейтрофильной инфильтрации в интерстиций, альвеолы и бронхиолы и инфильтрации мононуклеарных клеток в периваскулярную/перибронхиальную ткань по сравнению с контролем носителем. Различия между группой 4 (1 мг/кг 43D8) и контролем носителем в нейтрофильной инфильтрации в интерстиций, альвеолы и бронхиолы были незначительными. Ни одна из

групп исследуемых соединений не была столь же эффективна, как положительный контроль (дексаметазон), в снижении инфильтрации нейтрофилов в интерстиций, альвеолы и бронхиолы и инфильтрации моноклеарных клеток в периваскулярную/перибронхиоларную ткань (**Фиг. 9**).

[00595] Результаты для воспалительных цитокинов показаны на **Фиг. 10А и 10В**. В группе 43D8, получавшей 10 мг/кг, наблюдалось значительное снижение концентрации цитокинов по сравнению с контролем, получавшим носитель. Во всех случаях, за исключением IL-6 и TNF α , в группе 10 мг/кг 43D8 наблюдалось значительное снижение уровней воспалительных цитокинов по сравнению с положительным контролем (дексаметазон). Эти результаты также свидетельствуют об уменьшении местного воспаления в результате лечения антителом к TF.

Пример 6. Влияние антитела к TF в модели РСВ

[00596] Исследование *in vivo* было проведено для оценки влияния антитела к TF (например, 43D8) на количество отдельных видов лейкоцитов в БАЛ в модели респираторно-синцитиального вируса (RSV).

[00597] Самкам мышей BALB/c в возрасте ~ 6-8 недель в начале исследования вводили 50 мкл исходного штамма RSV-A2 с титром $8,5 \times 10^5$, который первоначально был получен от ATCC (VR-1540) путем интраназальной инокуляции. Группа 1 получала супернатант Нер-2 в качестве отрицательного контроля. Все инокуляции проводили, пока животные находились под действием ингаляционной анестезии.

[00598] Через 2 часа после инфицирования RSV-A2 молекулы вводили в объемах, составленных для доставки количеств, указанных в **таблице 66**, внутривенным (в/в) или пероральным (п/о) путем (n=10 на группу). AZD1480 (ингибитор JAK служил положительным контролем). Через 5 дней после инфицирования у каждого животного отбирали легкие и взвешивали. Затем легкие промывали буфером Хэнкса и жидкостью бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ), отбирали у каждого животного и подсчитывали общее количество лейкоцитов в БАЛ. БАЛЖ делили на 3 аликвоты и хранили при -80°C. Правое легкое и левое легкое разделяли пополам, взвешивали, по отдельности быстро замораживали и хранили при -80°C. Правое легкое хранили для количественного определения вируса.

Таблица 66 Экспериментальный дизайн для исследования модели РСВ

Группа	РСВ А	Лечение	Путь введения, график введения доз (t+2 часа)	Доза (мг/кг)
1	лизат НЕР-2	отсутствует	отсутствует	Не анализирован
2	8,5 $\times$ 10 ⁵ БОЕ, Интраназальная	Носитель (PBS)	в/в, однократная доза 1 день	---
3	инокуляция	43D8	в/в, однократная доза, 1 доза	1 мг/кг

4		43D8	в/в, однократная доза 1 день	10 мг/кг
5		AZD1480	п/о, два раза в сутки с 1 по 4 день	30 мг/кг

[00599] Предметные стекла готовили с оставшимися лейкоцитами БАЛ, фиксировали и окрашивали красителем Май-Гимза, а дифференциальные подсчеты клеток записывали вручную. Аликвоту жидкости БАЛ оценивали с использованием панели мышиных цитокинов от Meso Scale Discovery (MSD, Роквилл, Мэриленд).

[00600] Результаты показали значительное снижение среднего количества лейкоцитов для группы 4 (10 мг/кг 43D8) по сравнению с контролем, содержащим носитель, и по сравнению с положительным контролем (AZD1480) (**Фиг. 11**). Как показано на **Фиг. 12**, в группе 4 наблюдалось значительное снижение среднего количества макрофагов в БАЛ, среднего количества нейтрофилов в БАЛ и среднего количества лимфоцитов в БАЛ. Результаты также демонстрируют дозозависимый ответ на лечение антителом к TF. Не наблюдалось изменений количества моноцитов и эозинофилов (данные не показаны). В целом, эти результаты согласуются с тем, что TF опосредует хемотаксис.

Пример 7. Влияние антитела к TF в модели поли I:C

[00601] Исследование *in vivo* было проведено для оценки эффектов антитела к TF (например, 43D8) на конечные точки воспаления в модели полиинозин-полицитидиловой кислоты (поли(I:C)). Модель поли I:C имитирует реакцию легких на вирусную инфекцию *in vivo*. В модели мышам вводят поли I:C, который представляет собой синтетический аналог двухцепочечной (дц)РНК и является лигандом TL3. Он часто используется *in vivo* для изучения распознавания вирусов врожденной иммунной системой клетки-хозяина и последующего цитокинового шторма и воспаления.

[00602] Вкратце, на 1, 2 и 3 дни всех мышей подвергали анестезии путем ингаляции изофлурана. Мышей удерживали в вертикальном положении и с помощью пипетки вводили 50 мкл поли (I:C) в PBS в ноздри животного. На 2 день, через 3 часа после второй интраназальной провокации, 10 мышей из выбранной группы подвергали терминальной анестезии и проводили сбор крови и три последовательных сбора бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). На 4 день, через 24 часа после последней интраназальной провокации, оставшихся мышей подвергали терминальной анестезии и проводили сбор крови и три последовательных сбора бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). Показатели БАЛ оценивали с помощью мультиплексного электрохемилюминесцентного анализа MSD.

[00603] Дозирование тестируемых соединений: носитель, изотипический контроль и антитело (например, 43D8) вводили внутрибрюшинно (в/б) в 1 день за 2 часа до инъекции поли:I:C.

[00604] Дозы и группы представлены в **таблицах 68 и 69**.

Таблица 68 Примеры дизайна исследования для групп 1-4

Группа	Лечение	Уровень дозы, путь введения, частота дозирования поли:IC	Уровень дозы, путь введения, объем, частота дозирования TI	N	Некропсия 1	Некропсия 2
1	Наивные/Носитель (PBS)	-	0 мг/кг, в/б, один раз в 1 день	10	-	4 день, 24 часа после последнего поли:IC
2	Поли:(IC)/носитель (PBS)	50 мкг/50мкл, интраназально, дни 1, 2, 3	0 мг/кг, внутрибрюшинно, 10 мл/кг, один раз в 1 день за 2 часа до поли:IC	10+ 10	2 день, 3 часа после 2-го поли:IC	4 день, 24 часа после последнего поли:IC
3	Поли (I:C)/антитело	50 мкг/50мкл, интраназально, дни 1, 2, 3	10 мг/кг, внутрибрюшинно, 10 мл/кг, один раз в 1 день за 2 часа до поли:IC	10+ 10	2 день, 3 часа после 2-го поли:IC	4 день, 24 часа после последнего поли:IC
4	Поли (I:C) / антитело изотипического контроля	50 мкг/50мкл, интраназально, дни 1, 2, 3	10 мг/кг, внутрибрюшинно, 10 мл/кг, один раз в 1 день за 2 часа до поли:IC	10	-	4 день, 24 часа после последнего поли:IC

Таблица 69 Дозы 43D8, мг антитела/кг

Группа	Лечение и исследуемое соединение	Доза (мг/кг)	Время сбора

1	Носитель (наивные мыши)	Не анализирован	3 день
2	Носитель+поли I:C	Не анализирован	2 день
3	43D8+поли I:C	10 мг/кг	2 день
5	Носитель+поли I:C	Не анализирован	3 день
6	Изотип+поли I:C	10 мг/кг	3 день
7	43D8+поли I:C	10 мг/кг	3 день

[00605] На **Фиг. 18А** показаны уровни провоспалительных цитокинов на 3 день исследования. Результаты показали заметное снижение уровней провоспалительных маркеров GMCSF, VEGF, IL17F, IL-1 бета, IL-6, IFN-гамма и KC на 3 день в группе 7 (группа лечения 43D8+поли I:C) по сравнению с группой 5 (носитель+контроль поли I:C) и группой 7 (изотип+контроль поли I:C).

[00606] На **Фиг. 18В** показаны уровни противовоспалительных маркеров IL-10 и IL28p28 на 3 день исследования. Уровни обоих маркеров были существенно повышены на 3 день в группе 7 (43D8+группа лечения поли I:C) по сравнению с группой 5 (носитель+контроль поли I:C) и группой 7 (изотип+контроль поли I:C).

[00607] Для сравнения, величина ответа была меньше на 2 день.

Пример 8. Влияние антитела к TF в модели COVID

[00608] Исследование *in vivo* было проведено для оценки эффектов антитела к TF (например, 43D8) в модели COVID. Эта модель была использована для оценки лечебных эффектов мкАт 43D8 к TF в плазме и легких 4-8-недельных мышей B6.Cg-Tg(K18-ACE2), которые экспрессируют человеческий ACE2 (The Jackson Laboratory), после интраназального заражения SARS-CoV-2.

[00609] Вкратце, мышей в группах с 1 по 4 заражали небольшим объемом SARS-CoV-2 в день исследования 1 путем интраназальной инокуляции в соответствии с **таблицей 70**. Мыши в группах с 1 по 4 получали однократную дозу тестируемого или контрольного соединения примерно за 2 часа (± 15 минут) до заражения. Мышей в группах 1 и 2 подвергали эвтаназии для сбора образцов на 4 день исследования. Мышей в группах 3 и 4, выживших на 8 день исследования, подвергали эвтаназии для сбора образцов. За мышами наблюдали с регистрацией наблюдений как минимум два раза в день с интервалом не менее шести часов в течение периода исследования, за исключением дня гуманного умерщвления, когда проводилось только одно наблюдение. Массу тела измеряли до исследования и ежедневно во время исследования.

Таблица 70 Детали эксперимента для исследования модели анти-TF-COVID

Группа	Количество мышей	Доза/Путь введения для заражения	Лечение	Доза/Путь введения для лечения	Начало лечения	Запланированное Умерщвление

						(День исследования)
1	5 М и 5 F	SARS-CoV-2/ 1E+03/ и/н ¹	Солевой раствор	10 мг/кг/в/б ²	~ 2 часа (± 15 минут) до заражения	4
2	5 М и 5 F		43D8			4
3	5 М и 5 F		Солевой раствор			8
4	5 М и 5 F		43D8			8

F=самка, и/н=интраназальный, в/б=внутрибрюшинный, М=самец

¹ По 12,5 мкл закапывают в правую и левую ноздри до общего объема 25 мкл. ² Лечение будет проводиться в целевом объеме 10 мл/кг.

[00610] На Фиг. 19 показаны результаты измерения массы тела в ходе исследования. В таблице 71 показаны результаты клинических наблюдений в группе лечения солевым раствором и 43D8.

Таблица 71 Клинические наблюдения в модели COVID

Солевой раствор	Клинические наблюдения для солевого раствора	43D8	Клинические наблюдения для 43D8
2254	Сгорбленная поза, взъерошенная шерсть	2268	Нормальное состояние до конца исследования
2255	Смерть на 7 день	2269	Нормальное состояние до конца исследования
2266	Нормальное состояние до конца исследования	2271	Нормальное состояние до конца исследования
2267	Сгорбленная поза, вялость, затрудненное дыхание	2274	Нормальное состояние до конца исследования
2270	Смерть на 8 день	2275	Нормальное состояние до конца исследования
2281	Нормальное состояние до конца исследования	2277	Вялость, затрудненное дыхание
2286	Нормальное состояние до конца исследования	2279	Нормальное состояние до конца исследования

2288	Сгорбленная поза, затрудненное дыхание	2280	Нормальное состояние до конца исследования
2297	Нормальное состояние до конца исследования	2283	Нормальное состояние до конца исследования
2298	Сгорбленная поза, вялость, ослабленное дыхание	2300	Нормальное состояние до конца исследования

[00611] В целом, результаты показали задержку потери массы в группе лечения 43D8. В группе, получавшей 43D8, летальных исходов не наблюдали, в то время как в контрольной группе во время исследования погибло 2 животных. У большинства животных в контрольной группе наблюдались значительные клинические проявления, в то время как в группе лечения 43D8 признаки заболевания проявились только у 1 животного.

[00612] *Гистопатология легких*

[00613] Для оценки влияния антител к TF (например, 43D8) на гистопатологию легких в конце исследования животных подвергают эвтаназии. После эвтаназии образцы ткани из легких помещают в 10% нейтральный забуференный формалин (NBF) на ≥ 48 часов, а затем переносят в 70% этанол на ≥ 72 часов. Образцы заливают парафином, делают срезы и окрашивают гематоксилином и эозином (H&E) для гистопатологического анализа.

[00614] *Измерение вирусного титра*

[00615] Для оценки влияния антител к TF (например, 43D8) на уровни вирусного титра SARS-CoV-2, вкратце, образцы объемом $\sim 4\text{--}5\text{ мм}^3$ асептически отбирают из правого легкого после эвтаназии и сохраняют в RNeasy lysis buffer. Анализ методом количественной ПЦР в реальном времени (кПЦР в реальном времени) используется для измерения вирусной нагрузки в образцах. Назальные, фарингеальные и ректальные образцы также анализируют с помощью кПЦР в реальном времени через определенные промежутки времени в ходе исследования. Способы измерения и анализа данных вирусного титра известны специалистам в данной области техники. См., например, Roberts, Anjeanette, et al. PLoS pathogens 3.1 (2007): e5, соответствующее описание которой включено в данный документ посредством ссылки.

[00616] *Измерения цитокинов/хемокинов в БАЛ*

[00617] Для оценки влияния антител к TF (например, 43D8) на уровни цитокинов и хемокинов, у мышей, которых подвергают терминальной анестезии во время исследования, отбирают кровь и бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ). Измеряют уровни провоспалительных цитокинов (например, GM-CSF, VEGF, IL17F, IL-1-бета, IL-6, IFN-гамма, TNF и KC). Измеряют уровни противовоспалительных цитокинов (например, IL-10 и IL27p28).

[00618] *Измерение D-димера*

[00619] Для оценки влияния антител к TF (например, 43D8) на уровни D-димера, отбирают кровь для получения образцов плазмы и сыворотки из группы лечения (43D8) и контрольной группы (солевой раствор). Образцы плазмы и сыворотки анализируют на наличие D-димеров с помощью твердофазного ИФА. Примеры способов измерения и анализа уровней D-димера в мышинной модели представлены, например, в Weiler, Hartmut, et al. "Characterization of a mouse model for thrombomodulin deficiency." *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 21.9 (2001): 1531-1537, соответствующее описание которой включено в данный документ посредством ссылки.

Пример 9. Влияние антитела к TF на восстановление после инфаркта миокарда (ИМ)

[00620] PAR2, экспрессируемый макрофагами, а также цитоплазматический домен TF оказывают пагубное влияние на постишемическое восстановление при инфаркте миокарда (ИМ) у мышей. Было проведено исследование *in vivo* для оценки влияния антитела к TF (например, 43D8) и блокады сигналинга TF на восстановление после инфаркта миокарда (ИМ). Способы создания и тестирования конечных точек в моделях MI известны специалистам в данной области техники. См., например, Molitor, Michael, et al. *Cardiovascular research* 117.1 (2021): 162-177, соответствующее описание которой включено в данный документ посредством ссылки.

[00621] Вкратце, чтобы индуцировать ИМ, мышей подвергали постоянной перевязке левой передней нисходящей коронарной артерии. За работой сердца следили с помощью высокочастотной ультразвуковой прижизненной визуализации. После индукции ИМ мыши (8 мышей на группу) получали 10 мг антитела 43D8/кг или изотипического контроля в позвоночник. Введение антитела и контроля проводили на 1-й и 4-й день после ИМ, а оценку сердечной функции проводили на 7-й день с помощью высокочастотной ультразвуковой прижизненной визуализации. Высокочастотная ультразвуковая прижизненная визуализация использовалась для определения индекса нарушения локальной сократимости миокарда (размера инфаркта), фракции выброса левого желудочка и конечно-диастолического объема левого желудочка. Мышей подвергали эвтаназии на 7-й день, и ишемизированные ткани сердца оценивали на рекрутирование воспалительных клеток в инфарктный миокард. Рекрутирование воспалительных клеток анализировали с использованием сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS) в ткани инфаркта миокарда.

[00622] Результаты показаны на **Фиг. 20-23**. Результаты показали, что размер инфаркта был уменьшен в группе, получавшей антитело к TF, по сравнению с изотипическим контролем (**Фиг. 20**). ИМ снижает фракцию выброса левого желудочка, и результаты показали, что лечение антителом к TF восстанавливает фракцию выброса левого желудочка в большей степени, чем изотипический контроль. ИМ значительно увеличивает конечно-диастолический объем левого желудочка, и результаты показали, что лечение антителом к TF снижает конечно-диастолический объем левого желудочка в большей степени, чем изотипический контроль (**Фиг. 21**). Результаты также показали

уменьшение инфильтрации воспалительных клеток в инфарктный миокард (Фиг. 22 и 23).

Экспрессия цитокинов и сигналинг PAR2

[00623] Приведенные выше результаты могут свидетельствовать о том, что антитело к TF прерывает сигналинг TF-Par2. Для оценки влияния антитела к TF на сигналинг TF-Par2, экспрессию воспалительных цитокинов измеряли с помощью ОТ-ПЦР, а фосфорилирование ERK1/2 использовали в качестве маркера сигналинга PAR2. Конечные точки воспаления измеряют на 7-й и 28-й день.

Пример 10. Влияние антитела к TF на модель индуцированного антителами к коллагену артрита (CAIA)

[00624] Исследование *in vivo* проводят для оценки влияния антитела к TF (например, 43D8) на конечные точки воспаления в модели CAIA. В модели CAIA артрит индуцируется с помощью моноклональных антител к коллагену II типа.

[00625] Вкратце, мышей одного пола в возрасте ~ 21 дня на момент начала исследования случайным образом и проспективно распределяют в пять групп (n=10 в группе):

Группа 1: наивные

Группа 2: контроль носителем (PBS)

Группа 3 Исследуемое соединение (10 мг/кг 43D8)

Группа 4: положительный контроль (дексаметазон)

Группа 5: анти-TNF α

[00626] На 0 день заболевание индуцируют в группах 2-5 путем введения смеси антител к коллагену II типа. В тот же день животные в группах 2-5 получают носитель, положительные контроли или исследуемое соединение. На 3 день животным внутривенно (в/б) вводят ЛПС. После этого животных ежедневно осматривают для оценки изменений в подвижности, которые могут свидетельствовать об артрите, измеряют массу и оценивают физическое состояние, как показано на (Фиг. 2).

[00627] В конце исследования (12 день) животных подвергают эвтаназии. После эвтаназии животное измеряют (определяют длину) и взвешивают. Соотношение массы и длины рассчитывают для каждого животного. Животных вскрывают и определяют массу селезенки. Образцы синовиальной жидкости отбирают и исследуют на инфильтрацию мононуклеарных клеток с помощью ИГХ. Образцы ткани из места индуцированного артрита помещают в 10% нейтральный забуференный формалин (NBF) на 24 часа, а затем в 70% этанол. Образцы заливают парафином, делают срезы и окрашивают гематоксилином и эозином (H&E) для гистопатологического анализа. В костях в месте индуцированного артрита также наблюдается эрозия кости. Дополнительные конечные точки, измеряемые у животных, включают клиническую оценку артрита, толщину подушечки лапы (например, когда артрит индуцируется в лапе) и общее клиническое наблюдение. (См., например, MacKenzie JD et al. Radiology. 2011;259(2):414-420 и Jung, EG., et al. BMC complementary and alternative medicine 15.1 (2015): 1-11., который полностью включен в данный документ посредством ссылки). Результаты демонстрируют

значительное улучшение измеренных показателей для антитела к TF (10 мг/кг 43D8) по сравнению с контролем.

Пример 11. Анализ аффинности связывания

[00628] Кинетические измерения для антител к TF проводили на Octet QK384 (Pall ForteBio, Фремонт, штат Калифорния, США) или Biacore (GE Healthcare Bio-Sciences).

[00629] Измерения аффинности ForteBio проводили как описано ранее (Estep et al., MAbs. 2013 Mar-Apr;5(2):270-8). Вкратце, измерения аффинности с помощью ForteBio выполняли путем загрузки IgG в режиме онлайн на датчики АНС. Сенсоры уравнивали офлайн в буфере для анализа в течение 30 минут и затем контролировали в режиме онлайн в течение 60 секунд для установления исходного уровня. Сенсоры с нагруженными IgG подвергали воздействию 100 нМ антигена (человека, яванского макака или мыши) в течение 3 мин., после чего их переносили в буфер для анализа на 3 мин. для измерения скорости диссоциации. Альтернативно, измерения связывания были получены путем загрузки биотинилированного мономера TF на сенсоры SA с последующим воздействием 100 нМ Fab антитела в растворе. Кинетические данные были проанализированы и сглажены с использованием модели связывания Ленгмюра 1:1, а K_D был рассчитан путем деления k_{off} на k_{on} . Значения K_D антител к TF, измеренных в экспериментах на основе Octet, показаны в **Таблице 5**.

[00630] Для измерений на основе Biacore антитело ковалентно связывали с чипом CM5 или C1 с использованием набора для связывания аминов (GE Healthcare Bio-Sciences). Ассоциацию между антителом к TF и пятиточечным трехкратным титрованием TF-His, начиная с 25-500 нМ, измеряли в течение 300 с. Затем измеряли диссоциацию между антителом к TF и TF-His в течение 1800 с. Кинетические данные были проанализированы и глобально аппроксимированы с использованием модели связывания 1:1. Значения K_D антител к TF, измеренных в экспериментах на основе Biacore, показаны в **Таблице 5**.

[00631] Как показано в **Таблице 5**, аффинность антител к hTF, как показано K_D , находится в диапазоне 10^{-7} М - 10^{-11} М. Все антитела к hTF перекрестно реагируют с cTF. Кроме того, все антитела против hTF из групп 25 и 43 проявляют активность связывания с mTF. Антитела против hTF 25G, 25G1, 25G9 и 43D8 перекрестно реагируют с mTF. Не существует других известных человеческих или гуманизированных моноклональных антител против hTF, которые проявляли бы связывающую активность и перекрестную реактивность с TF мыши, что указывает на то, что антитела из групп 25 и 43 связываются с новым эпитопом TF.

Таблица 5 Кинетика антитела

Ат	K_D человека (нМ) [Biacore]	K_D яванского макака (нМ) [Biacore]	K_D мыши (нМ) [Biacore]	K_D человека (нМ) [ForteBio]	K_D яванского макака (нМ) [ForteBio]	K_D мыши (нМ) [ForteBio]
1F	0,31	0,26	н/о*	1,28	1,43	без связывания*
1G	н/о*	н/о*	н/о*	2,20	2,70	н/о*
25A	6,20	5,42	н/о*	8,45	7,65	263
25A3	0,36	0,21	н/о*	1,67	1,36	131
25A5	0,08	0,04	н/о*	0,64	0,76	188
25G	23,0	18,0	н/о*	21,9	17,5	114
25G1	0,94	0,78	5,4	3,97	4,99	34,2
25G9	13,3	16,4	2,9	35,8	42,9	9,16
29D	н/о*	н/о*	н/о*	3,30	12,0	н/о
29E	0,47	5,06	н/о*	2,32	15,0	без связывания*
39A	0,09	0,08	н/о*	0,83	0,57	без связывания*
43B	1,75	5,64	н/о*	2,40	3,40	161
43B1	0,07	0,12	н/о*	0,96	1,05	72,1
43B7	0,14	0,24	н/о*	0,86	0,94	360
43D	2,09	5,66	н/о*	3,84	4,12	281
43D7	0,06	0,12	21	1,02	1,11	41,4
43D8	0,15	0,39	2,4	1,61	1,96	6,12
43E	1,46	5,69	н/о*	2,52	4,07	121
43Ea	1,60	6,42	н/о*	2,28	2,71	140
54E	0,42	1,83	н/о*	1,59	4,16	без связывания*

без связывания*: от полного отсутствия до слабого связывания, без сообщаемой K_D
н/о*, не определено

Пример 12. Клеточный анализ связывания

[00632] Клетки HCT116 с эндогенной экспрессией TF человека были получены из Американской коллекции культур тканей (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) и их культивировали в соответствии с рекомендациями. Клетки Flp-In-CHO, экспрессирующие

TF мыши, получали путем трансфекции клеток Flp-In-CHO, как рекомендовано, вектором pcDNA5/FRT (ThermoFisher Scientific), кодирующим полноразмерный TF мыши с С-концевой меткой FLAG. Клон CHO, позитивный в отношении TF мыши выделяли путем ограниченного разведения в 96-луночных планшетах с культурой ткани.

[00633] Связывание антител на основе клеток оценивали, как описано ранее в Liao-Chan et al., PLoS One, 2015, 10:e0124708, которая полностью включена посредством ссылки. $1,2 \times 10^5$ клеток, собранных с помощью Cellstripper (Mediatech, Манассас, штат Вирджиния, США), инкубировали с двенадцатиточечным титрованием 1:3 IgG1 или Fab к TF, начиная с 250 нМ или 100 нМ, в течение 2 часов на льду. После 2 промываний клетки, меченные IgG1 или Fab, инкубировали в течение 30 минут на льду с 150 нМ фрагмента F(ab')₂ козьего фикоэритрина (PE) козьего антитела против IgG человека, специфичного к фрагменту Fcγ (Jackson ImmunoResearch, Вест Гроув, штат Пенсильвания, США) или FITC-меченному фрагменту F(ab')₂ козьего антитела к каппа цепи человека (SouthernBiotech, Бирмингем, штат Алабама, США), соответственно. После 2 промываний мертвые клетки метили йодидом TO-PRO-3 (ThermoFisher Scientific), а образцы анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, Бреа, штат Калифорния, США) или проточном цитометре Novocyte (ACEA Biosciences, Сан-Диего, штат Калифорния, США). Медианные интенсивности флуоресценции (MFI) для каждого разведения были нанесены на график и рассчитаны EC₅₀ клеток с использованием 4-параметрической модели связывания в Prism (GraphPad, Ла Джола, штат Калифорния, США). Результаты связывания антител к TF с клетками НСТ-116, положительными по TF человека, показаны в международной заявке РСТ РСТ/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. Результаты связывания антител к TF с клетками CHO, экспрессирующими TF мыши, показаны в международной заявке РСТ РСТ/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[00634] Все антитела к hTF, указанные в международной заявке РСТ РСТ/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, проявляют высокую аффинность к клеткам НСТ-116, положительным по TF человека, с EC₅₀ в диапазоне от около 687 пМ до около 39 пМ. Антитела из групп 25 и 43 демонстрируют связывание с клетками CHO, экспрессирующими TF мыши, с EC₅₀ в диапазоне от около 455 нМ до около 2,9 нМ, что показано в международной заявке РСТ РСТ/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, включенной в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Активность связывания с TF мыши является уникальным свойством антител к hTF (например, из групп 25 и 43). Этот факт является полезным для доклинических исследований этих антител на мышах. В определенных вариантах осуществления аффинность связывания с TF мыши является важным свойством для отбора антител против воспалительных заболеваний, воспаления и фиброза.

Пример 13. Анализ образования тромбина (TGA)

[00635] Анализ TGA проводили с использованием прибора для калиброванной автоматической тромбограммы (CAT), изготовленного и распространенного STAGO. Схема метода тестирования была эквивалентна стандартному анализу CAT, за исключением того, что источником плазмы был NPP в цитрате/CTI. Антитела к TF титровали при 0, 10, 50 и 100 нМ и смешивали с нормальной объединенной плазмой (NPP), собранной в 11 мМ цитрате с добавлением 100 мкг/мл ингибитора кукурузного трипсина (цитрат/CTI). Повторно липидированный TF добавляли в 96-луночный аналитический планшет с последующим добавлением смеси антител/NPP. После 10-минутной инкубации или сразу после объединения повторно липидированного TF с антителом/NPP инициировали образование тромбина путем добавления кальция и субстрата тромбина. Программное обеспечение STAGO использовали для определения следующих параметров: пик Па (самая высокая полученная концентрация тромбина [нМ]); Время задержки (время до образования Па [мин]); ЕТР (потенциал эндогенного тромбина, площадь под кривой [нМ x мин]) и вдПика (время до пика Па [мин]). Также определяли процент пика образования тромбина (% пика Па) и процент потенциала эндогенного тромбина (% ЕТР) в присутствии каждого антитела относительно контроля плазмы без антител на том же планшете.

[00636] Пик Па, время задержки, ЕТР, вдПика, % Пика Па и % ЕТР в присутствии каждого антитела, выбранного из 1F, 25A, 25A3, 25G1, 29E, 39A, 43B1, 43D7, 43Ea и 54E без инкубации с антителом до добавления кальция и субстрата тромбина показаны в **Таблице 6**. Пик Па, время задержки, ЕТР, вдПика, % Пика Па и % ЕТР в присутствии каждого антитела, выбранного из 1F, 25A, 25A3, 25G1, 29E, 39A, 43B1, 43D7, 43Ea и 54E с 10 минутной инкубацией с антителом до добавления кальция и субстрата тромбина показаны в **Таблице 7**. % пика Па в присутствии титров антител к TF без инкубации антител перед добавлением кальция и субстрата тромбина показан в международной заявке РСТ РСТ/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включенных в данный документ посредством ссылки. % пика Па в присутствии титров антител к TF с инкубацией антител в течение 10 мин перед добавлением кальция и субстрата тромбина показан в международной заявке РСТ РСТ/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включенных в данный документ посредством ссылки.

[00637] % Пика Па превышает 90% в присутствии антител из группы 25, включая 25A, 25A3 и 25G1. % ЕТР превышает 100% в присутствии антител из группы 25, включая 25A, 25A3 и 25G1. % Пика Па превышает 40% в присутствии антител из группы 43, включая 43B1, 43D7 и 43Ea. % ЕТР превышает 90% в присутствии антител из группы 43, включая 43B1, 43D7 и 43Ea.

[00638] Эти данные демонстрируют, что антитела из групп 25 и 43 обеспечивают нормальное образование тромбина и, следовательно, не являются ингибиторами образования тромбина.

Таблица 6 Анализ образования тромбина без предварительной инкубации с

антителом

Планшет	Антитело	Конц. Ат (нМ)	Пик Па (нМ)	Врем я задер жки (мин)	ЕТР (нМ•мин)	вдПи ка (мин)	% Пик а Па	% ЕТ Р
1	1F	100	29	25,9	*	37,9	7	*
		50	32	27,2	*	36,8	8	*
		10	83	12,1	1395	19,8	21	58
1	25A	100	398	4,4	2610	7,1	99	108
		50	399	4,2	2621	7,1	99	108
		10	403	4,1	2555	6,8	100	106
1	25A3	100	405	3,9	2493	6,5	100	103
		50	404	3,9	2495	6,6	100	103
		10	401	4,2	2550	7,3	99	106
1	25G1	100	416	4,5	2626	7,1	103	109
		50	416	4,5	2680	7,1	103	111
		10	417	4,5	2635	7,0	103	109
1	29E	100	99	17,3	*	26,4	25	*
		50	107	14,4	1747	22,7	26	72
		10	266	5,7	2189	10,0	66	91
1	39A	100	26	28,9	*	40,1	6	*
		50	30	30,5	*	40,0	7	*
		10	82	12,1	1330	19,6	20	55
1	Контроль, плазма	Не анализиро ван	403	4,1	2417	6,8	100	100
2	43B1	100	221	5,2	2167	10,6	64	100
		50	232	5,2	2195	10,3	67	101
		10	299	4,9	2288	8,9	87	105
2	43D7	100	179	5,4	2094	11,8	52	96
		50	202	5,3	2116	11,1	58	97
		10	287	5,0	2263	9,0	83	104
2	43Ea	100	300	4,6	2219	8,1	87	102

		50	307	4,6	2234	8,1	89	103
		10	328	5,0	2329	8,3	95	107
2	54E	100	68	14,8	1175	23,9	20	54
		50	154	8,9	2019	15,9	44	93
		10	307	5,7	2307	9,6	89	106
2	Изотип	100	348	5,0	2415	8,3	101	111
		50	347	5,0	2360	8,0	101	109
		10	346	4,3	2260	7,6	100	104
2	Контроль, плазма	Не анализируются	345	4,7	2171	7,8	100	100

* Группы с ошибками «Хвост не найден», указывают на случаи, когда программное обеспечение не может вычислить ЕТР.

Таблица 7 Анализ образования тромбина с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом

Плaншeт	Анти-телo	Конц. Ат (нМ)	Пик Па (нМ)	Время задержки (мин)	ЕТР (нМ•мин)	вдПика (мин)	% Пика Па	% ЕТР
1	1F	100	17	30,3	*	42,0	7	*
		50	20	27,6	*	38,9	7	*
		10	27	18,8	540	28,6	10	31
1	25A	100	285	3,3	1898	6,7	108	110
		50	284	3,3	1887	6,6	107	110
		10	277	3,3	1842	6,7	105	107
1	25A3	100	277	3,1	1785	6,3	105	104
		50	275	3,2	1824	6,4	104	106
		10	278	3,2	1827	6,6	105	106
1	25G1	100	293	3,3	1827	6,4	111	106
		50	301	3,3	1853	6,3	114	108
		10	302	3,3	1891	6,3	114	110
1	29E	100	68	15,1	1098	25,3	26	64
		50	70	14,2	1168	24,3	27	68
		10	78	10,4	1254	20,2	30	73
1	39A	100	17	28,0	*	40,2	7	*

		50	17	28,4	346	38,9	7	20
		10	25	20,8	482	30,7	9	28
1	Контроль, плазма	Не анализиров ан	264	3,3	1720	6,8	100	100
2	43B1	100	152	3,2	1712	9,3	58	98
		50	163	3,2	1797	9,0	62	103
		10	200	3,2	1788	8,1	76	103
2	43D7	100	124	3,6	1656	10,3	47	95
		50	128	3,6	1677	10,3	49	96
		10	178	3,6	1745	8,8	68	100
2	43Ea	100	239	2,9	1820	6,9	91	104
		50	227	2,9	1791	7,1	87	103
		10	247	3,2	1825	7,0	94	105
2	54E	100	29	22,1	580	32,3	11	33
		50	35	18,3	680	28,4	13	39
		10	112	6,1	1530	13,4	43	88
2	Изотип	100	288	3,2	1888	6,6	110	108
		50	285	3,2	1879	6,6	109	108
		10	273	3,2	1804	6,6	104	104
2	Контроль, плазма	Не анализиров ан	262	3,2	1742	6,9	100	100

* Группы с ошибками «Хвост не найден», указывают на случаи, когда программное обеспечение не может вычислить ЕТР.

Пример 14. Анализ конверсии FXa

[00639] Чтобы оценить способность TF: FVIIa превращать FX в FXa в присутствии антител человека к TF, 5×10^4 клеток MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) помещали в обработанные культурой ткани черные 96-луночные планшеты (Greiner Bio-One, Монро, штат Северная Каролина, США). После удаления среды для культивирования клеток и добавления конечной концентрации 200 нМ FX в HEPES-буфере с 1,5 мМ CaCl₂ клетки инкубировали с титрами антител в течение 15 мин при 37°C. После восстановления бинарного комплекса TF:FVIIa с конечной концентрацией FVIIa 20 нМ клетки инкубировали в течение 5 мин при 37°C. После гашения реакции этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) образованный FXa измеряли с 50 мкМ флуорогенного субстрата на основе 6-амино-1-нафталинсульфонамида SN-7 (Haematologic

Technologies, Эссекс-Джанкшен, штат Вирджиния, США) на планшет-ридере Envision, оборудованном фильтром возбуждения Umbelliferone 355, эмиссионным фильтром Umbelliferone 460 и верхним зеркалом LANCE/DELFIA (Perkin Elmer, Уолтам, штат Массачусетс, США). Процент конверсии FXa (% FXa) в присутствии титров антитела к TF по сравнению с контролем без антител обобщены в **таблице 8** и представлены в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включенных в данный документ посредством ссылки.

[00640] Процент превращения FXa находится в диапазоне от около 78% до около 120% в присутствии различных концентраций антител из групп 25 и 43, включая 25A, 25A3, 25G, 25G1, 25G5, 25G9, 43B, 43B1, 43B7, 43D, 43D7, 43D8, 43E и 43Ea.

[00641] Эти данные показывают, что антитела к TF из групп 25 и 43 не ингибируют опосредованное TF: FVIIa превращение FXa из FX. Эти данные также показывают, что антитела к TF из групп 25 и 43 имеют сайт связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FX.

Таблица 8% конверсии FXa

Антитело	% FXa			
	12,5 нМ	25 нМ	50 нМ	100 нМ
1F	49	40	37	38
1G	55	48	41	41
25A	87	81	94	89
25A3	89	89	93	96
25A5	82	85	78	89
25G	99	109	102	116
25G1	101	96	99	108
25G9	98	97	104	117
29D	85	77	75	75
29E	81	68	63	66
39A	39	38	37	39
43B	113	109	105	105
43B1	106	108	108	112
43B7	113	104	108	112
43D	115	109	104	106
43D7	110	103	102	103
43D8	120	112	107	111
43E	85	89	97	98
43Ea	108	103	106	101

54E	53	44	41	42
5G9	37	33	30	30
Изотипический контроль	93	95	89	97

Пример 15: Конкурентный анализ FVIIa

[00642] Конъюгаты FVII-Fc получали с использованием сложных эфиров 5-сульфодихлорфенола Alexa Fluor 488 (ThermoFisher Scientific). Избыток красителя Alexa Fluor удаляли из препаратов конъюгата посредством гель-фильтрации (ThermoFisher Scientific).

[00643] Для оценки конкуренции между FVIIa и антителами человека к TF, TF-позитивные клетки MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием антителами человека к TF. Затем к смеси антител-клеток добавляли конечную концентрацию 20 нМ FVII-Fc, конъюгированного с Alexa488. Еще через 1 час инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции. Связывание FVII-Fc представляли как % связывания $FVII-Fc = [MFI_{\text{меченых антителами клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}] / [MFI_{\text{IgG1 контрольных меченых клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}]$. Процент связывания FVIIa (% FVIIa) в присутствии титров антитела к TF по сравнению с контролем без антител представлен в **таблице 9** и показан в международной заявке PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[00644] Процент связывания FVIIa находится в диапазоне от около 76% до около 102% в присутствии антител в различных концентрациях из групп 25 и 43, включая 25A, 25A3, 25G, 25G1, 25G5, 25G9, 43B, 43B1, 43B7, 43D, 43D7, 43D8, 43E и 43Ea.

[00645] Эти данные демонстрируют, что антитела к TF из групп 25 и 43 не конкурируют за связывание TF человека с FVIIa. Эти данные также показывают, что антитела к TF из групп 25 и 43 имеют сайт связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa.

Таблица 9 Конкуренция антител к TF с FVIIa

Антитело	% FVIIa			
	9,25 нМ	28 нМ	83 нМ	250 нМ
1F	7	7	7	6
1G	7	7	7	6
25A	100	101	97	98
25A3	90	87	88	87
25A5	76	79	77	80

25G	97	96	93	92
25G1	97	93	94	95
25G9	93	93	91	89
29D	6	4	3	3
29E	5	3	2	2
39A	2	2	2	2
43B	99	95	93	91
43B1	97	95	93	91
43B7	98	98	97	97
43D	102	100	98	94
43D7	101	102	100	101
43D8	100	99	98	96
43E	95	92	91	89
43Ea	93	91	92	89
54E	11	3	3	2
Изотип	99	98	97	99

Пример 16: Анализ сигналинга TF

[00646] Уровни белка IL-8 и GM-CSF измеряли, как описано ранее в Hjortoe et al., Blood, 2004, 103:3029-3037. TF-позитивные клетки MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, Вирджиния, США), которые подверглись 2-часовому сывороточному голоданию со средой Лейбовица L-15, инкубировали с 8-точечным титрованием 1:2,5, начиная с 100 нМ антитела к TF. Через 30 минут при 37°C к клеткам добавляли FVIIa (NovoSeven RT, Novo Nordisk, Багсверд, Дания) в конечной концентрации 20 нМ. Через 5 ч супернатанты клеточных культур собирали и анализировали с помощью твердофазного ИФА на IL8 или GM-CSF в соответствии с рекомендациями (R&D Biosystems, Миннеаполис, штат Миннесота, США). Стандартную кривую с использованием рекомбинантного IL8 или GM-CSF (R&D Biosystems, Миннеаполис, штат Миннесота, США) использовали в Prism для расчета концентрации цитокинов в супернатантах клеточных культур. Процент IL8 и GM-CSF (% IL8 и % GM-CSF) при сообщенной концентрации антител рассчитывали относительно контроля без антител. Концентрация IL8 в присутствии титров антител к TF показана в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки, а % IL8 при различных концентрациях антител показаны в **таблице 10**. Концентрация GM-CSF в присутствии титров антител к TF показана в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки, а % IL8 при различных концентрациях антител показаны в **таблице 11**.

[00647] Концентрации IL8 снижались более чем на 75% в присутствии антител к TF при концентрациях, превышающих или равных 6,4 нМ. Концентрации GM-CSF снижались более чем на 60% в присутствии антител к TF при концентрациях, превышающих или равных 6,4 нМ.

[00648] Эти данные указывают на то, что все протестированные антитела к TF ингибируют FV α -зависимую передачу сигналов TF.

Таблица 10 Ингибирование IL8

Антитело	% IL8				
	100 нМ	40 нМ	16 нМ	6,4 нМ	2,56 нМ
1F	2	2	2	3	18
1G	2	2	3	4	26
25A	9	8	10	11	43
25A3	8	8	8	9	47
25A5	6	7	7	14	70
25G	9	10	16	22	60
25G1	9	8	9	12	46
25G9	13	14	15	22	51
29D	1	2	2	6	27
29E	2	2	2	5	33
39A	3	2	2	6	52
43B	4	4	5	11	50
43B1	5	5	6	12	56
43B7	4	4	8	15	55
43D	5	5	7	21	58
43D7	5	4	5	11	48
43D8	5	5	5	21	67
43E	5	5	6	15	49
43Ea	6	6	6	14	52
54E	2	2	3	8	48
Контроль	106	108	84	88	90

Таблица 11 Ингибирование GM-CSF

Антитело	% GM-CSF				
	100 нМ	40 нМ	16 нМ	6,4 нМ	2,56 нМ
1F	6	6	6	8	27
1G	7	7	7	9	34

25A	22	19	22	24	57
25A3	20	19	19	20	59
25A5	12	15	14	18	72
25G	19	18	32	39	77
25G1	17	16	17	18	48
25G9	25	26	26	34	60
29D	5	6	7	15	38
29E	6	6	5	9	33
39A	7	5	5	8	42
43B	14	13	12	21	59
43B1	11	11	13	16	50
43B7	11	11	13	17	50
43D	12	11	13	24	56
43D7	10	10	9	15	45
43D8	12	11	11	24	57
43E	14	15	15	21	61
43Ea	14	15	14	21	65
54E	5	5	5	10	38
Контроль	105	111	94	86	88

Пример 17: Конкурентный анализ антител

[00649] Антитела с Alexa Fluor получали с использованием сложных эфиров 5-сульфодихлорфенола Alexa Fluor 488 (ThermoFisher Scientific). Избыток красителя Alexa Fluor удаляли из препаратов конъюгата антитело-краситель посредством гель-фильтрации (ThermoFisher Scientific).

[00650] Для оценки конкуренции между первым антителом человека к TF и 25A, TF-с клетки A431 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием первого антитела человека к TF. Затем к смеси антител-клеток добавляли конечную концентрацию 20 нМ 25A, конъюгированного с Alexa488. Еще через 1 час инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции. Связывание 25A представляли как % связывания $25A = \frac{[\text{МИФ}_{\text{меченых антителами клеток}} - \text{МИФ}_{\text{неокрашенных клеток}}]}{[\text{МИФ}_{\text{IgG1 контрольных меченых клеток}} - \text{МИФ}_{\text{неокрашенных клеток}}]}$.

[00651] Для оценки конкуренции между первым антителом человека к TF и 43Ea, TF-позитивные клетки A431 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием первого антитела человека к TF.

Затем к смеси антител-клеток добавляли конечную концентрацию 20 нМ 43Еа, конъюгированного с Alexa488. Еще через 1 час инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции. Связывание 43Еа представляли как % связывания $43Еа = \frac{[МИФ_{\text{меченых антителами клеток}} - МИФ_{\text{неокрашенных клеток}}]}{[МИФ_{IgG1 \text{ контрольных меченых клеток}} - МИФ_{\text{неокрашенных клеток}}]}$.

[00652] % связывания 25А и % связывания 43Еа представлены в **Таблице 12**. Антитела из группы 25 и группы 43 снижали % связывания 25А и % связывания 43Еа менее чем на 10%.

[00653] Эти данные демонстрируют, что антитела группы 25 и антитела группы 43 конкурируют друг с другом за связывание с TF человека и могут связывать один и тот же или перекрывающийся эпитоп TF человека.

Таблица 12 Конкуренция антитела к TF с клоном антитела 25А или 43Еа

Антитело (100 нМ)	% связывания 25А	% связывания 43Еа
1F	95	77
1G	75	58
25А	3	1
25G	7	3
29D	70	64
29Е	96	85
39А	99	96
43В	0	0
43D	0	0
43Е	0	0
54Е	99	96
Изотип	100	100

Пример 18: Анализ жизнеспособности клеток

[00654] Чтобы оценить интернализацию антител к TF, был проведен анализ цитотоксичности. Вкратце, клетки высевали в 384-луночные планшеты (Greiner Bio-One, Монро, штат Северная Каролина, США) по 4×10^3 клеток на лунку в 40 мкл среды. Антитела и вторичные антитела к Fc человека, конъюгированные с ингибитором тубулина монометилауристатином F (MMAF) (Moradec, Сан-Диего, штат Калифорния, США), серийно разводили, начиная с 5 и 30 нМ соответственно. Планшеты инкубировали в течение 3 суток с последующим лизисом в реагенте для анализа CellTiter-Glo (CTG) (Promega, Мэдисон, штат Висконсин, США). Люминесценцию CTG измеряли на планшет-ридере Envision, а среднее значение и стандартное отклонение для 4 повторов отображали на графике Prism. Для каждого антитела к TF IC₅₀ и связанный с ней 95% доверительный

интервал рассчитывали в Prism с использованием 4-параметрической модели связывания.

[00655] Жизнеспособность клеток, на которую указывает уровень люминесценции и расчетная IC_{50} , показана в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[00656] Эти данные демонстрируют, что все протестированные антитела к TF из групп 1, 25, 29, 39, 43 и 54 были эффективны в снижении жизнеспособности TF-позитивных клеток A431.

Пример 19. Анализ образования тромбина (TGA)

[00657] Анализ TGA проводили с использованием прибора для калиброванной автоматической тромбограммы (CAT), изготовленного и распространенного STAGO. Схема метода испытаний была эквивалентна стандартному анализу CAT, за исключением того, что источником плазмы была нормальная объединенная плазма (NPP) в цитрате с добавлением ингибитора кукурузного трипсина (цитрат/CTI). Антитела к TF титровали при 0, 10, 50 и 100 нМ и смешивали с нормальной объединенной плазмой (NPP), собранной в 11 мМ цитрате с добавлением 100 мкг/мл ингибитора кукурузного трипсина (цитрат/CTI). Повторно липидированный TF добавляли в 96-луночный аналитический планшет с последующим добавлением смеси антител/NPP. После 10-минутной инкубации или сразу после объединения повторно липидированного TF с антителом/NPP инициировали образование тромбина путем добавления кальция и субстрата тромбина. Программное обеспечение STAGO использовали для определения следующих параметров: пик Па (самая высокая полученная концентрация тромбина [нМ]); Время задержки (время до образования Па [мин]); ЕТР (потенциал эндогенного тромбина, площадь под кривой [нМ x мин]) и вдПика (время до пика Па [мин]). Также определяли процент пика образования тромбина (% пика Па) и процент потенциала эндогенного тромбина (% ЕТР) в присутствии каждого антитела относительно контроля плазмы без антител на том же планшете.

[00658] Пик Па, время задержки, ЕТР, вдПика, % Пика Па и % ЕТР в присутствии каждого антитела, выбранного из 25А, 25А3, 25А5, 39А, 43В1, 43D7, 43Еа и М1593 без инкубации с антителом до добавления кальция и субстрата тромбина показаны в **Таблице 37**. Пик Па, время задержки, ЕТР, вдПика, % Пика Па и % ЕТР в присутствии каждого антитела, выбранного из 25А, 25А3, 25А5, 39А, 43В1, 43D7, 43Еа и М1593 с 10 минутной инкубацией с антителом до добавления кальция и субстрата тромбина показаны в **Таблице 38**. % пика Па в присутствии титров антител к TF без инкубации антител перед добавлением кальция и субстрата тромбина показан в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включенных в данный документ посредством ссылки. % пика Па в присутствии титров антител к TF без инкубации антител перед добавлением кальция и субстрата тромбина показан в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включенных в данный документ посредством ссылки.

Антитело M1593 имеет последовательность VH SEQ ID NO: 821 и последовательность VL SEQ ID NO: 822.

[00659] % Пика Па составляет 95% или более в присутствии антител из группы 25, включая 25A, 25A3 и 25A5, без предварительной инкубации с антителом. % Пика Па составляет 100% или более в присутствии антител из группы 25, включая 25A, 25A3 и 25A5, с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. % ЕТР составляет 99% или более в присутствии тестируемых антител из группы 25.

[00660] % Пика Па больше 50%, но равен или меньше 96% в присутствии антител из группы 43, включая 43B1, 43D7 и 43Еа, и антитела к TF M1593 без предварительной инкубации с антителом. % Пика Па больше 40%, но равен или меньше 93% в присутствии антител из группы 43, включая 43B1, 43D7 и 43Еа, и антитела к TF M1593 с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом. % ЕТР составляет 92% или более в присутствии тестируемых антител из группы 43 и антителом M1593.

[00661] Эти данные демонстрируют, что антитела из групп 25 и 43 обеспечивают нормальное образование тромбина и, следовательно, не являются ингибиторами образования тромбина. Процент образования пика тромбина (% пика Па) больше в присутствии антител группы 25 по сравнению с антителами группы 43 и антителом M1593.

Таблица 37 Анализ образования тромбина без предварительной инкубации с антителом

Планшет	Антитело	Конц. Ат (нМ)	Пик Па (нМ)	Время задержки (мин)	ЕТР (нМ•мин)	вдПика (мин)	% Пика Па	% ЕТР
3	25A	100	334	5,0	2390	8,7	96	105
		50	335	5,0	2380	8,7	96	104
		10	333	5,0	2387	8,6	95	104
3	25A3	100	343	5,0	2405	8,4	98	105
		50	349	5,0	2433	8,4	100	106
		10	350	5,0	2426	8,0	100	106
3	25A5	100	342	5,1	2393	8,5	98	105
		50	344	4,8	2317	8,1	98	101
		10	343	4,7	2270	8,0	98	99
3	39A	100	22	38,1	*	48,3	6	*
		50	29	33,1	*	43,2	8	*
		10	84	12,4	1332	20,7	24	58
3	43B1	100	223	4,8	2111	10,0	64	92

		50	239	4,9	2134	9,9	68	93
		10	303	5,1	2318	9,1	87	101
3	43D7	100	186	5,6	2105	12,2	53	92
		50	216	5,5	2183	11,3	62	96
		10	301	5,4	2338	9,3	86	102
3	43Ea	100	302	5,1	2347	9,1	87	103
		50	308	5,1	2392	8,8	88	105
		10	336	4,5	2305	7,8	96	101
3	M1593	100	242	5,1	2235	10,4	69	98
		50	270	5,1	2282	9,8	77	100
		10	322	5,1	2368	8,8	92	104
3	Изотип	100	347	5,0	2319	8,1	99	101
		50	348	5,0	2324	8,1	100	102
		10	348	5,0	2326	8,3	100	102
3	Контроль, плазма	Не анализируется	349	4,7	2285	7,7	100	100

* Группы с ошибками «Хвост не найден», указывают на случаи, когда программное обеспечение не может вычислить ЕТР.

Таблица 38 Анализ образования тромбина с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом

Планшет	Антитело	Конц. Ат (нМ)	Пик Па (нМ)	Время задержки (мин)	ЕТР (нМ•мин)	вдПика (мин)	% Пика Па	% ЕТР
3	25A	100	274	3,3	1879	7,0	103	106
		50	279	3,3	1876	7,0	105	106
		10	280	3,6	1872	7,0	105	106
3	25A3	100	290	3,4	1906	6,8	109	108
		50	291	3,6	1925	6,8	109	109
		10	287	3,3	1886	6,8	108	107
3	25A5	100	286	3,7	1883	7,0	107	107
		50	277	3,7	1803	7,0	104	102
		10	278	3,7	1808	7,0	104	102
3	39A	100	17	32,1	*	43,2	6	*
		50	21	29,0	*	39,7	8	*

		10	30	20,9	*	30,8	11	*
3	43B1	100	156	3,6	1701	9,3	58	96
		50	148	3,3	1667	9,6	55	94
		10	203	3,7	1776	8,2	76	101
3	43D7	100	120	3,7	1633	10,8	45	92
		50	131	3,7	1724	10,4	49	98
		10	197	3,7	1784	8,8	74	101
3	43Ea	100	244	3,3	1817	7,3	91	103
		50	246	3,3	1833	7,3	92	104
		10	247	3,3	1779	7,1	93	101
3	M1593	100	160	3,7	1737	9,4	60	98
		50	165	3,7	1739	9,3	62	99
		10	224	3,7	1807	8,0	84	102
3	Изотип	100	279	3,7	1829	7,2	105	104
		50	283	3,7	1839	7,0	106	104
		10	279	3,7	1814	7,1	105	103
3	Контроль, плазма	Не анализиро ван	267	3,7	1766	7,2	100	100

* Группы с ошибками «Хвост не найден», указывают на случаи, когда программное обеспечение не может вычислить ЕТР.

Пример 20. Синтез конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC)

[00662] Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC) синтезировали, как описано Behrens et al., Mol Pharm, 2015, 12:3986-98. 5 мг/мл антитела в фосфатно-солевом буфере (PBS), pH 7,4 восстанавливали 2,5 молярными эквивалентами трис(2-карбоксиэтил)фосфина. Через 2 часа при 37 °C частично восстановленное антитело охлаждали до комнатной температуры и конъюгировали в течение 1 часа с 3-5 молярными эквивалентами MC-vc-PAB-MMAE (малеимидапроил-валин-цитруллин-п-аминобензоилоксикарбонил-монометилауристатин E). Буфер реакционной смеси заменяли на PBS для удаления реагентов с малой молекулярной массой. Отношение лекарственное средство-антитело (DAR) полученных ADC составляло 3-4. DAR определяли по следующей формуле: $\text{Абсорбция (248 нм)} / \text{абсорбция (280 нм)} = (n \times E_{\text{PAB}}[248 \text{ нм}] + E_{\text{антитела}}[248 \text{ нм}]) / (n \times E_{\text{PAB}}[280 \text{ нм}] + E_{\text{антитела}}[280 \text{ нм}])$ с n в качестве переменной для DAR и E_x в качестве коэффициентов экстинкции PAB и антитела. Хроматография гидрофобного взаимодействия и эксклюзионная хроматография использовались соответственно для подтверждения оценки DAR на основе поглощения и для обеспечения того, чтобы препарат ADC был по меньшей мере на 95% мономерным.

Пример 21. Анализы цитотоксичности конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC)

[00663] Для оценки цитотоксичности ADC, TF-позитивные клетки A431 и HPAF-II высевали в 384-луночные планшеты (Greiner Bio-One, Монро, штат Северная Каролина, США) по 4×10^3 клеток на лунку в 40 мкл среды. Антитела к TF, конъюгированные с MC-vc-PAB-MMAE, серийно разводили, начиная с 5 нМ. Планшеты инкубировали в течение 3-4 суток с последующим лизисом в реагенте для анализа CellTiter-Glo (CTG) (Promega, Мэдисон, штат Висконсин, США). Люминесценцию CTG измеряли на планшет-ридере Envision, а среднее значение и стандартное отклонение для 4 повторов отображали на графике Prism. Для каждого ADC IC_{50} и связанный с ней 95% доверительный интервал рассчитывали в Prism с использованием 4-параметрической модели связывания.

[00664] Жизнеспособность клеток, на которую указывает люминесценция CTG, и расчетная IC_{50} в TF-положительных клетках A431 и HPAF-II показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. ADC, содержащие антитела к TF из групп 25, 43 и 39, конъюгированные с MC-vc-PAB-MMAE, приводили к цитотоксичности в TF-позитивных клетках A431 и HPAF-II.

[00665] Эти данные показывают, что конъюгаты антитело к TF-лекарственное средство снижают жизнеспособность TF-позитивных клеток *in vitro*.

Пример 22. Анализ аффинности связывания с TF свиньи

[00666] Проверяли способность некоторых антител связывать TF свиньи. Для измерений TF свиней на основе Biacore, данное антитело к TF было захвачено антителом к IgG человека, ковалентно связанным с чипом CM5 (GE Healthcare Bio-Sciences). Ассоциацию между антителами к TF и пятиточечным трехкратным титрованием свиного TF-His, начиная с 100 нМ, измеряли в течение 180-240 секунд. Затем измеряли диссоциацию между антителом к TF и TF-His в течение 1800 с. Кинетические данные были проанализированы и глобально аппроксимированы с использованием модели связывания 1:1. Значения K_D указанных антител к TF, измеренных в экспериментах на основе Biacore, показаны в **Таблице 40**.

[00667] Как показано в **Таблице 40**, антитела к hTF из групп 25 и 43, 25G9 и 43D8 проявляют активность связывания и перекрестную реактивность с TF свиньи.

Таблица 40 Кинетика антител в отношении TF свиней

Ат	K_D (нМ) свиньи [стандартное отклонение]
1G	без связывания*
29D	без связывания*
25G9	3,31 [0,08]
43D8	12,9 [0,03]

без связывания*: от полного отсутствия связывания до слабого связывания, без сообщаемой K_D

Пример 23. Клеточный анализ связывания

[00668] TF-позитивные линии раковых клеток человека A431 и MDA-MB-231 и TF-позитивные линии клеток *Mus musculus* RF/6A были получены из Американской коллекции культур тканей (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) и культивировались в соответствии с рекомендациями.

[00669] Связывание антител на основе клеток оценивали, как описано ранее в Liao-Chan et al., PLoS One, 2015, 10:e0124708, которая полностью включена посредством ссылки. $1,2 \times 10^5$ клеток, собранных с помощью Cellstripper (Mediatech, Манассас, штат Вирджиния, США), инкубировали с 12-точечным разведением 1:3 антитела IgG1 к TF человека, начиная с 250 нМ или 100 нМ, в течение 2 часов на льду. После 2 промываний клетки, меченные антителом IgG1, инкубировали в течение 30 мин на льду с 150 нМ козьего фикоэритрина (PE) козьего F(ab')₂-фрагмента к IgG человека, специфичного к фрагменту Fcγ (Jackson ImmunoResearch, Уест-Гроув, штат Пенсильвания, США) или меченого FITC фрагмента козьего F(ab')₂ к каппа человека (SouthernBiotech, Бирмингем, штат Алабама, США), соответственно. После 2 промываний мертвые клетки метили йодидом TO-PRO-3 (ThermoFisher Scientific), а образцы анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, Бреа, штат Калифорния, США) или проточном цитометре Novocyte (ACEA Biosciences, Сан-Диего, штат Калифорния, США). Медианные интенсивности флуоресценции (MFI) для каждого разведения были нанесены на график и рассчитаны EC₅₀ клеток с использованием 4-параметрической модели связывания в Prism (GraphPad, Ла Джолла, штат Калифорния, США). В анализ были включены антитела, которые существенно не влияют на конверсию FX (т.е. 25A, 25A3, 25G1, 43B1, 43D7 и 43Ea), и антитела, которые ингибируют конверсию FX более чем на 50% (т.е. 1F, 29E, 39A и 54E). Результаты связывания антител к TF с клетками A431, положительными по TF человека, показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. Результаты связывания антител к TF с клетками MDA-MB-231, положительными по TF человека, показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[00670] Все протестированные антитела к hTF на Фиг. 12A в заявке PCT PCT/US2019/012427 и в заявке на полезную модель США № 16/959652 проявляют высокую аффинность к клеткам A431, положительным по TF человека, с EC₅₀ в диапазоне от около 1,50 нМ до около 0,34 нМ. Контрольный изотип IgG1 не связывал клетки A431 (нет связывания, нс). Все протестированные антитела к hTF, приведенные на Фиг. 12B в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, проявляют высокую аффинность к клеткам MDA-MB-231, положительным по TF человека, с EC₅₀ в диапазоне от около 1,50 нМ до около 0,06 нМ. Контрольный изотип IgG1 не связывал клетки MDA-MB-231 (нет связывания, нс).

[00671] Как описано в **Примере 11** и показано в **Таблице 5**, аффинность

связывания антител к hTF оценивали на TF яванского макака. (*Macaca fascicularis*). Белковые последовательности TF *Macaca fascicularis* и TF *Macaca mulatta* идентичны. Связывание TF-специфических антител с яванским макаком было подтверждено с использованием клеточной линии *Macaca mulatta* RF/6A, как показано в **таблице 42**. Все протестированные антитела к hTF проявляют высокую аффинность к TF-позитивным клеткам RF/6A *Macaca mulatta* с EC₅₀ в диапазоне от около 1,28 нМ до около 0,17 нМ. Способность антител к TF связываться с клетками яванского макака является преимуществом для токсикологических исследований этих антител на моделях приматов, отличных от человека.

Таблица 42 Связывание антител к TF с клетками RF/6A *Macaca mulatta*

Ат	EC ₅₀ (нМ) RF/6A	95% CI RF/6A
1F	0,17	от 0,14 до 0,21
25A	0,43	от 0,37 до 0,50
25A3	0,27	от 0,24 до 0,30
25G1	0,27	от 0,23 до 0,32
29E	0,53	от 0,46 до 0,61
39A	0,27	от 0,23 до 0,32
43B1	0,47	от 0,40 до 0,55
43D7	0,41	от 0,35 до 0,49
43Еа	0,92	от 0,83 до 1,01
54E	1,28	от 1,16 до 1,41

Пример 24. Анализ связывания с TF, полученным от *E. coli*

[00672] TF, полученный от *E. coli* экспрессировали как слитый с сигнальной последовательностью OmpA и TF ECD-His6 и очищен с помощью аффинной и анионообменной хроматографии. Связывание антител к TF 1F, 25A, 25A3, 25G1, 29E, 39A, 43B1, 43D7, 43Еа и 54E с TF, полученным из Expi293 или *E. coli*, определяли с помощью исследований белков ИФА. Планшеты, покрытые TF-His, полученным из Expi293 или *E. coli*, инкубировали с возрастающими концентрациями антител. После инкубации с вторичным антителом, конъюгированным с HRP (Jackson ImmunoResearch), были получены данные люминесценции, которые использовали для расчета EC₅₀ с 95% доверительными интервалами с использованием Prism. Значения EC₅₀ и 95% доверительные интервалы антител приведены в **Таблице 43**.

Таблица 43 Связывание антител к TF с TF, полученным из Expi293 или *E. coli*

Ат	EC ₅₀ (нМ) белка TF, полученного из Expi293	95% CI белка TF, полученного из Expi293	EC ₅₀ (нМ) белка TF, полученного из <i>E. coli</i>	95% CI белка TF, полученного из <i>E. coli</i>

1F	0,41	от 0,37 до 0,46	0,32	от 0,30 до 0,34
25A	0,54	от 0,49 до 0,60	0,35	от 0,30 до 0,41
25A3	0,47	от 0,39 до 0,56	0,36	от 0,31 до 0,42
25G1	0,42	от 0,36 до 0,47	0,31	от 0,29 до 0,33
29E	0,98	от 0,78 до 1,24	0,68	от 0,39 до 1,26
39A	0,45	от 0,39 до 0,53	0,34	от 0,28 до 0,40
43B1	0,57	от 0,53 до 0,61	0,39	от 0,34 до 0,44
43D7	0,71	от 0,62 до 0,80	0,43	от 0,35 до 0,53
43Ea	0,74	от 0,68 до 0,81	0,46	от 0,40 до 0,53
54E	0,96	от 0,73 до 1,29	0,38	от 0,22 до 0,62

[00673] Все протестированные антитела к hTF проявляют высокую аффинность к TF, полученному из *E. coli*, с EC_{50} в диапазоне от около 0,68 нМ до около 0,31 нМ, что сопоставимо с аффинностью связывания антител к TF, полученного из Expi293 (примерно от 0,98 до 0,41 нМ). Эти результаты показывают, что, хотя антитела к TF были отобраны против гликозилированного TF из линии клеток человека, эти антитела могут связываться с TF, полученным из *E.coli*, с аналогичной аффинностью при измерении с помощью белкового ИФА.

Пример 25. Анализ образования тромбина (TGA)

[00674] Анализ TGA проводили с использованием прибора для калиброванной автоматической тромбограммы (CAT), производимого и распространяемого компанией STAGO (Diagnostica Stago SAS, Аньер-сюр-Сен, Франция). См. Samama et al., *Thromb Res*, 2012, 129:e77-82, включенной в качестве ссылки во всей своей полноте. Схема метода испытаний была эквивалентна стандартному анализу CAT, за исключением того, что источником плазмы была нормальная объединенная плазма (NPP), собранная в 11 мМ цитрате с добавлением 100 мкг/мл ингибитора кукурузного трипсина (цитрат/СТП). Антитела к TF титровали при 0, 10, 50 и 100 нМ и смешивали с NPP в цитрате/СТП. Повторно липидированный TF добавляли в 96-луночный аналитический планшет с последующим добавлением смеси антитело/NPP. После 10-минутной инкубации или сразу после объединения повторно липидированного TF с антителом/NPP инициировали образование тромбина путем добавления кальция и субстрата тромбина. Программное обеспечение STAGO использовали для определения следующих параметров: Пик Па (самая высокая концентрация тромбина, полученная на кривой образования тромбина [нМ]); время задержки (время от начала анализа до момента образования 10 нМ тромбина [мин]); ЕТР (потенциал эндогенного тромбина, площадь под кривой [нМ x мин]); и вдПика (время от начала анализа до пика Па [мин]). Также определяли процент пикового образования тромбина (% пика Па), процент потенциала эндогенного тромбина (% ЕТР) и процент вдПика (% вдПика) в присутствии каждого антитела относительно контроля плазмы без антител на том же планшете. Используемый в данном документе термин

«анализ образования тромбина» (TGA) относится к TGA, используемому в этом примере.

[00675] Пик Па, время задержки, ЕТР, вдПика, % Пика Па, % ЕТР и % вдПика в присутствии каждого антитела, выбранного из 1F, 25A, 25A3, 25G1, 29E, 39A, 43B1, 43D7, 43Ea, 54E, TF-011, 5G9 и 10H10 без инкубации с антителом до добавления кальция и субстрата тромбина показаны в **Таблице 44**. Пик Па, время задержки, ЕТР, вдПика, % Пика Па, % ЕТР и % вдПика в присутствии каждого антитела, выбранного из 1F, 25A, 25A3, 25G1, 29E, 39A, 43B1, 43D7, 43Ea, 54E, TF-011, 5G9 и 10H10 с 10 минутной инкубацией с антителом до добавления кальция и субстрата тромбина показаны в **Таблице 45**. Кривая образования тромбина в присутствии 100 нМ антитела к TF без предварительной инкубации антител показана в международной заявке РСТ РСТ/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. Пиковая концентрация тромбина в присутствии титров антител к TF без предварительной инкубации антител показана в международной заявке РСТ РСТ/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[00676] Как показано в международной заявке РСТ РСТ/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652 (полностью включенных в данный документ посредством ссылки), в условиях без предварительной инкубации антител при концентрации антител 100 нМ, 1F, 29E, 39A, 54E снижал концентрацию для пика Па на 92, 76, 91 и 70%, соответственно. Точно так же 100 нМ 5G9 и TF-011 ингибировали пиковую концентрацию Па на 92% и 91% соответственно. Значительно сниженное образование тромбина в присутствии двух самых высоких концентраций 1F, 39A, 5G9 и TF-011 затрудняло расчеты образования эндогенного тромбина (ЕТР) и увеличивало время до пика Па/образования тромбина (вдПика) по меньшей мере на 284% и 353% при 50 нМ и 100 нМ соответственно. Напротив, антитела из группы 25 не влияли на пиковую концентрацию Па или вдПика более чем на 9%. Антитела группы 43 и 10H10 слабо влияли на концентрацию пика Па: 100 нМ 43B1, 43D7, 43Ea и 10H10 снижали концентрацию пика Па на 33, 44, 13 и 34%, соответственно. Кроме того, 100 нМ 43B1, 43D7 и 10H10 продемонстрировали увеличение вдПика по меньшей мере на 29%. Однако наблюдаемое снижение концентрации пика Па и задержка вдПика для антител группы 43 и 10H10 не привели к снижению ЕТР более чем на 10%.

[00677] Сходные результаты показаны в **Таблице 45** в условиях 10-минутной предварительной инкубации с антителом. При концентрации антитела 100 нМ 1F, 29E, 39A, 54E снижали концентрацию пика Па на 93, 72, 93 и 87% соответственно. Точно так же 100 нМ 5G9 и TF-011 ингибировали пиковую концентрацию Па на 92% и 91% соответственно. Значительно сниженное образование тромбина в присутствии двух самых высоких концентраций 1F, 39A, 54E и TF-011 и всех протестированных концентраций 5G9 затрудняло расчеты образования эндогенного тромбина (ЕТР) и увеличивало время до пика Па/образования тромбина (вдПика) по меньшей мере на 303% и 371% при 50 нМ и 100 нМ соответственно. Напротив, антитела из группы 25 не снижали пиковую

концентрацию Па и не увеличивали вдПика. Антитела группы 43 и 10Н10 слабо влияли на концентрацию пика Па: 100 нМ 43В1, 43D7, 43Еа и 10Н10 снижали концентрацию пика Па на 41, 56, 13 и 48%, соответственно. Кроме того, 100 нМ 43В1, 43D7 и 10Н10 продемонстрировали увеличение вдПика по меньшей мере на 33%. Однако наблюдаемое снижение концентрации пика Па и задержка вдПика для антител группы 43 и 10Н10 не привели к снижению ЕТР более чем на 11%.

[00678] В целом, эти результаты демонстрируют, что антитела группы 25 полностью инертны на предпоследнем этапе каскада коагуляции, когда принимаются во внимание все три параметра TGA (ЕТР, пиковая концентрация Па и вдПика).

Таблица 44 Анализ образования тромбина без предварительной инкубации с антителом

План шет	Образец	Конц. Ат (нМ)	Пик Па [нМ] (SD)	Время задержк и (мин) (SD)	ЕТР [нМ•мин] (станд. откл.)	вдПи ка [мин] (SD)	% Пи ка Па	% ЕТ Р	% вдПи ка
1	1F	100	25 (1)	31 (1)	*	41 (0,7)	8	*	419
		50	31 (0)	25,6 (0,3)	*	35,3 (0,3)	9	*	347
		10	155 (1)	8,2 (0,2)	1738 (25)	14,9 (0,2)	47	86	89
1	25A	100	317 (6)	5,2 (0,2)	2134 (28)	8,6 (0,2)	95	105	9
		50	317 (2)	5,2 (0,2)	2122 (30)	8,6 (0,2)	95	105	9
		10	322 (2)	5 (0)	2108 (29)	8,2 (0,2)	97	104	4
1	25A3	100	323 (1)	4,6 (0,2)	2031 (19)	7,9 (0,2)	97	100	0
		50	328 (2)	4,7 (0)	2080 (23)	8 (0)	98	103	1
		10	326 (4)	5,3 (0)	2152 (14)	8,4 (0,2)	98	106	6
1	25G1	100	340 (3)	5,3 (0)	2160 (27)	8,3 (0)	102	107	5
		50	346 (6)	5,1 (0,2)	2221 (40)	8,2 (0,2)	104	110	4

		10	337 (1)	4,7 (0)	2061 (34)	7,8 (0,2)	101	102	-1
1	29E	100	81 (0)	17,1 (0,2)	1257 (18)	26,2 (0,2)	24	62	232
		50	95 (1)	14,1 (0,2)	1365 (26)	22,6 (0,4)	29	67	186
		10	235 (3)	7 (0)	1926 (9)	11,7 (0)	71	95	48
1	Изотип	100	326 (3)	5,3 (0)	2132 (13)	8,6 (0,2)	98	105	9
		50	331 (3)	5,3 (0)	2177 (19)	8,3 (0)	99	108	5
		10	328 (4)	5,3 (0)	2129 (26)	8,4 (0,2)	98	105	6
1	TF-011	100	30 (1)	26 (0,3)	*	35,8 (0,2)	9	*	353
		50	39 (3)	21,3 (0,5)	*	30,3 (1,1)	12	*	284
		10	156 (7)	8 (0)	1714 (41)	14,7 (0,5)	47	85	86
1	5G9	100	27 (1)	29,9 (0,4)	*	39,6 (0,4)	8	*	401
		50	28 (0)	25,1 (0,4)	*	34,6 (0,2)	8	*	338
		10	79 (1)	10,4 (0,2)	1176 (16)	18,6 (0,2)	24	58	135
1	10Н10	100	221 (4)	5,2 (0,2)	1945 (37)	10,2 (0,2)	66	96	29
		50	248 (3)	5,2 (0,2)	1978 (32)	9,8 (0,3)	74	98	24
		10	310 (2)	5,2 (0,2)	2036 (33)	8,6 (0,2)	93	101	9
1	Контроль,	Не анали	333 (0)	4,7 (0)	2023 (30)	7,9 (0,2)	100	100	0

	плазма	зирова ан							
2	39А	100	29 (0)	34,7 (0)	*	44,6 (0,2)	9	*	465
		50	36 (1)	29,8 (0,7)	*	39,3 (0,7)	11	*	397
		10	122 (3)	10,8 (0,3)	1694 (57)	18,6 (0,2)	37	84	135
2	43В1	100	238 (4)	5,3 (0)	2300 (32)	10,8 (0,2)	67	99	37
		50	258 (5)	5,2 (0,2)	2301 (29)	10,2 (0,2)	72	99	29
		10	317 (1)	5 (0)	2341 (34)	8,6 (0,2)	89	101	9
2	43D7	100	199 (6)	5,1 (0,2)	2124 (27)	11,2 (0,2)	56	91	42
		50	234 (1)	5 (0)	2190 (15)	10,3 (0)	66	94	30
		10	312 (3)	5 (0)	2343 (49)	8,9 (0,2)	88	101	13
2	43Еа	100	308 (2)	5 (0)	2349 (9)	9 (0)	87	101	14
		50	316 (3)	5 (0)	2430 (69)	8,7 (0)	89	105	10
		10	337 (4)	5 (0)	2416 (82)	8,3 (0)	95	104	5
2	54Е	100	108 (3)	12,2 (0,2)	1589 (13)	20,2 (0,2)	30	68	156
		50	191 (2)	8 (0)	2109 (51)	14,3 (0)	54	91	81
		10	311 (5)	5 (0)	2275 (41)	8,8 (0,2)	87	98	11
2	Изотип	100	351 (2)	4,7 (0)	2304 (14)	7,9 (0,2)	99	99	0
		50	353 (1)	5 (0)	2391 (29)	8,2	99	103	4

						(0,2)			
		10	348 (1)	5 (0)	2367 (9)	8,3 (0)	98	102	5
2	Контроль, плазма	Не анализован	356 (1)	4,9 (0,2)	2323 (76)	8,11 (0,3)	100	100	3

* Группы с ошибками «Хвост не найден», указывают на случаи, когда программное обеспечение не может вычислить ЕТР.

Таблица 45 Анализ образования тромбина с 10 минутной предварительной инкубацией с антителом

Планшет	Образец	Конц. Ат (нМ)	Пик Па [нМ] (SD)	Время задержки (мин) (SD)	ЕТР [нМ•мин] (станд. откл.)	вдПика [мин] (SD)	% Пика Па	% ЕТР	% вдПика
1	1F	100	20 (1)	29,5 (0,2)	*	40,8 (0,6)	7	*	483
		50	23 (0)	26,5 (0,7)	*	37,3 (0,4)	8	*	433
		10	44 (2)	13,8 (0,5)	742 (23)	22,4 (0,4)	16	41	220
1	25A	100	291 (3)	3,3 (0,1)	1964 (36)	6,7 (0,1)	106	108	-4
		50	290 (0)	3,3 (0,1)	1972 (22)	6,8 (0)	106	108	-3
		10	284 (1)	3,3 (0,1)	1899 (21)	6,8 (0)	104	104	-3
1	25A3	100	290 (3)	3,1 (0)	1893 (28)	6,4 (0)	106	104	-9
		50	284 (4)	3,1 (0)	1875 (16)	6,4 (0)	104	103	-9
		10	288 (3)	3,1 (0)	1901 (26)	6,4 (0)	105	105	-9
1	25G1	100	311 (3)	3,1 (0)	1954	6,3	114	107	-10

					(20)	(0,1)			
		50	311 (1)	3,1 (0)	1951 (22)	6,1 (0)	114	107	-13
		10	302 (3)	3,1 (0)	1877 (33)	6,1 (0)	110	103	-13
1	29E	100	76 (1)	14,7 (0,1)	1201 (24)	24,3 (0,3)	28	66	247
		50	83 (1)	14,1 (0)	1300 (17)	23,6 (0,1)	30	72	237
		10	98 (1)	9,4 (0)	1408 (11)	18,1 (0)	36	77	159
1	Изотип	100	288 (2)	3,4 (0)	1922 (28)	6,8 (0)	105	106	-3
		50	292 (2)	3,4 (0)	1921 (25)	6,8 (0)	107	106	-3
		10	290 (3)	3,4 (0)	1926 (38)	6,8 (0)	106	106	-3
1	TF-011	100	26 (0)	23,8 (1,1)	*	34,2 (0,9)	9	*	389
		50	27 (1)	22,4 (0,1)	*	33 (0,1)	10	*	371
		10	46 (3)	13,5 (0,5)	792 (55)	22,5 (0,2)	17	44	221
1	5G9	100	22 (0)	26,7 (0,3)	*	37,5 (0,5)	8	*	436
		50	23 (3)	23,6 (2,2)	*	34 (2,4)	8	*	386
		10	30 (1)	19,3 (0,4)	*	29 (0,8)	11	*	314
1	10Н10	100	169 (3)	3,4 (0)	1795 (36)	9,3 (0,1)	62	99	33
		50	175 (4)	3,4 (0)	1754 (20)	9,2 (0,1)	64	96	31
		10	235 (8)	3,4 (0)	1807 (42)	7,8 (0)	86	99	11
1	Контроль, плазма	Не анализ	274 (1)	3,4 (0)	1818 (24)	7 (0,1)	100	100	0

		ирова н							
2	39A	100	19 (1)	33,6 (0,7)	*	44,6 (0,9)	7	*	537
		50	22 (0)	30,7 (0,1)	*	41,4 (0,1)	8	*	491
		10	36 (1)	19,6 (0,7)	*	29,3 (0,8)	13	0	319
2	43B1	100	167 (0)	4 (0)	1806 (15)	9,8 (0,1)	59	98	40
		50	174 (1)	3,8 (0,1)	1831 (22)	9,6 (0)	62	99	37
		10	222 (5)	3,7 (0,1)	1841 (37)	8,3 (0)	79	100	19
2	43D7	100	123 (2)	4 (0)	1673 (27)	11,5 (0,1)	44	91	64
		50	122 (1)	3,7 (0,1)	1639 (29)	11,3 (0)	43	89	61
		10	194 (5)	4 (0)	1796 (35)	8,8 (0,1)	69	97	26
2	43Ea	100	244 (2)	3,5 (0,1)	1857 (42)	7,5 (0,1)	87	101	7
		50	245 (0)	3,6 (0)	1851 (29)	7,6 (0)	87	100	9
		10	262 (1)	3,6 (0)	1877 (15)	7,3 (0)	93	102	4
2	54E	100	37 (1)	22,3 (0,2)	*	33 (0,5)	13	*	371
		50	44 (1)	18,3 (0,4)	*	28,2 (1)	16	*	303
		10	121 (4)	6,5 (0,1)	1523 (20)	13,7 (0,3)	43	83	96
2	Изотип	100	275 (2)	3,6 (0)	1862 (23)	7,3 (0)	98	101	4
		50	284 (0)	3,6 (0)	1899 (15)	7,2 (0,1)	101	103	3

		10	281 (3)	3,6 (0)	1877 (13)	7,3 (0)	100	102	4
2	Контроль, плазма	Не анализирован	282 (2)	3,8 (0,1)	1845 (22)	7,3 (0)	100	100	4

* Группы с ошибками «Хвост не найден», указывают на случаи, когда программное обеспечение не может вычислить ETP.

Пример 26. Анализ конверсии FXa и анализ конкуренции FVIIa с ранее описанными антителами к TF

[00679] Описанные ранее TF-специфические антитела TF-011, 5G9 и 10H10 (Breij et al., Cancer Res, 2014, 74:1214-1226; Versteeg et al., Blood, 2008, 111:190-199; каждый из которых полностью включен посредством ссылки в полном объеме) были протестированы в анализе конверсии FXa и конкурентном анализе FVIIa.

[00680] Чтобы оценить способность TF: FVIIa превращать FX в FXa в присутствии антител человека к TF, проводили клеточный анализ конверсии FX, как описано в Larsen et al., J Biol Chem, 2010, 285:19959-19966, который полностью включен посредством ссылки. Вкратце, 5×10^4 клеток MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) высевали в обработанные тканевой культурой черные 96-луночные планшеты (Greiner Bio-One, Монро, штат Северная Каролина, США) и культивировали в течение ночи. После удаления среды для культивирования клеток и добавления конечной концентрации 200 нМ FX в HEPES-буфере с 1,5 мМ CaCl₂ клетки инкубировали с титрами антител в течение 15 мин при 37°C. После восстановления бинарного комплекса TF:FVIIa с конечной концентрацией FVIIa 20 нМ клетки инкубировали в течение 5 мин при 37°C. После гашения реакции этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) в черном 94-луночном планшете, образованный FXa измеряли с 50 мкМ флуорогенного субстрата на основе 6-амино-1-нафталинсульфонамида SN-7 (Haematologic Technologies, Эссекс-Джанкшен, штат Вирджиния, США) на планшет-ридере Envision, оборудованном фильтром возбуждения Umbelliferone 355, эмиссионным фильтром Umbelliferone 460 и верхним зеркалом LANCE/DELFI (Perkin Elmer, Уолтам, штат Массачусетс, США). Процент конверсии FXa (% FXa) в присутствии титров антитела к TF по сравнению с контролем без антител приведен в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включенных в данный документ посредством ссылки.

[00681] Для оценки конкуренции между FVIIa и антителами человека к TF, TF-позитивные клетки MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием антителами человека к TF или изотипическому контролю. Затем к смеси антитело-клетки добавляли FVII-Fc, конъюгированный с Alexa488, до конечной концентрации 20 нМ. Еще через 1 час

инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции (MFI). Связывание FVII-Fc представляли как % связывания $FVII-Fc = [MFI_{\text{меченных антителами клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}] / [MFI_{\text{IgG1 контрольных меченных клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}]$. Процент связывания FVIIa (% FVIIa) в присутствии титров антитела к TF относительно изотипического контроля показан в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включенных в данный документ посредством ссылки.

[00682] Как показано в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652 (полностью включенной в данный документ посредством ссылки), TF-011 и 5G9 ингибируют конверсию FX на 57-59% и 67-70% при концентрациях 25, 50 и 100 нМ. 10H10 существенно не ингибировал конверсию FX при этих трех концентрациях.

[00683] Как показано в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652 (полностью включенной в данный документ посредством ссылки), TF-011 эффективно конкурирует с FVII, тогда как 5G9 и 10H10 демонстрируют конкуренцию менее 25% и 10% при наибольшей концентрации антител, соответственно.

[00684] Эти результаты показывают, что 5G9 преимущественно конкурирует со связыванием субстрата FX, что приводит к наблюдаемому ингибированию конверсии FX и образования тромбина. TF-011 ингибирует образование тромбина, конкурируя с FVIIa за связывание с TF. Однако 10H10 ингибирует передачу сигналов, опосредованную TF-FVIIa, без существенного влияния на связывание FVIIa с TF. Эти результаты согласуются с предыдущими наблюдениями, описанными в Huang et al., J Mol Biol, 1998, 275:873-894; Ruf et al., Biochem J, 1991, 278:729-733; и Teplyakov et al., Cell Signal, 2017, 36:139-144; каждый из которых полностью включен посредством ссылки.

Пример 27. Конкурентный анализ антител

[00685] Антитела с Alexa Fluor получали с использованием сложных эфиров 5-сульфодихлорфенола Alexa Fluor 488 (ThermoFisher Scientific) согласно протоколу производителя. Избыток красителя Alexa Fluor удаляли из препаратов конъюгата антитело-краситель посредством гель-фильтрации (ThermoFisher Scientific).

[00686] Для оценки конкуренции между первым антителом человека к TF и 25A3, TF-позитивные клетки MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием первого антитела человека к TF. Затем к смеси антител-клеток добавляли конечную концентрацию 20 нМ 25A3, конъюгированного с Alexa488. Еще через 1 час инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции. Связывание 25A3

представляли как % связывания $25A3 = \frac{[MIF_{\text{меченых антителами клеток}} - MIF_{\text{неокрашенных клеток}}]}{[MIF_{IgG1 \text{ контрольных меченых клеток}} - MIF_{\text{неокрашенных клеток}}]}$.

[00687] Для оценки конкуренции между первым антителом человека к TF и 43D7, TF-позитивные клетки MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием первого антитела человека к TF. Затем к смеси антител-клеток добавляли конечную концентрацию 20 нМ 43D7, конъюгированного с Alexa488. Еще через 1 час инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции. Связывание 43D7 представляли как % связывания $43D7 = \frac{[MIF_{\text{меченых антителами клеток}} - MIF_{\text{неокрашенных клеток}}]}{[MIF_{IgG1 \text{ контрольных меченых клеток}} - MIF_{\text{неокрашенных клеток}}]}$.

[00688] Для оценки конкуренции между первым антителом человека к TF и 39A, TF-с клетки MDA-MB-231 (ATCC, Манассас, штат Вирджиния, США) сначала инкубировали в течение 1 часа на льду с титрованием первого антитела человека к TF. Затем к смеси антител-клеток добавляли конечную концентрацию 20 нМ 39A, конъюгированного с Alexa488. Еще через 1 час инкубации на льду клетки промывали, окрашивали красителем для определения жизнеспособности и анализировали посредством проточной цитометрии. Данные флуоресценции Alexa488 от жизнеспособных клеток представляли с использованием средней интенсивности флуоресценции. Связывание 39A представляли как % связывания $39A = \frac{[MFI_{\text{меченых антителами клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}]}{[MFI_{IgG1 \text{ контрольных меченых клеток}} - MFI_{\text{неокрашенных клеток}}]}$.

[00689] % связывания 25A3, % связывания 43D7 и % связывания 39A показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959,652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. Антитела из групп 25 и 43, 5G9 и 10H10 снижали % связывания 25A3 и % связывания 43D7 и не снижали % связывания 39A. Антитела из групп 1, 29, 39 и 54 и TF-011 снижали % связывания 39A и не снижали % связывания 25A3 и % связывания 43D7.

[00690] Хотя результаты конкурентного анализа антител показывают, что антитела групп 25 и 43, 5G9 и 10H10 могут связываться с одним и тем же или перекрывающимся эпитопом TF человека или могут влиять на связывание TF друг с другом посредством аллостерического механизма, эксперименты по картированию химерных конструкций TF, описанные в другом месте в данном документе, демонстрируют, что антитела группы 25, антитела группы 43, 5G9 и 10H10 связывают различные эпитопы. Кроме того, хотя результаты конкурентного анализа антител демонстрируют, что антитела групп 1, 29, 39 и 54 и TF-011 могут связываться с одним и тем же или перекрывающимся эпитопом TF человека или могут влиять на связывание TF друг с другом через аллостерический механизм, эксперименты по картированию химерных конструкций TF, описанные в другом месте в данном документе, демонстрируют, что антитела групп 29, 39 и 54 связывают эпитопы, отличные от эпитопа TF-011.

Пример 28. Интернализация антител к TF

[00691] Для оценки интернализации антител к TF был проведен анализ цитотоксичности, как описано в Liao-Chan et al., PLoS One, 2015, 10:e0124708, который полностью включен посредством ссылки. Вкратце, клетки высевали в 384-луночные планшеты (Greiner Bio-One, Монро, штат Северная Каролина, США) по 4×10^3 клеток на лунку в 40 мкл среды. Антитела и Fab к Fc человека, конъюгированные с ингибитором тубулина монометилауристатинном F (MMAF) (Moradec, Сан-Диего, штат Калифорния, США), серийно разводили, начиная с 5 и 30 нМ соответственно. Fab к Fc человека, конъюгированные с MMAF, состояли из поликлональных антител, специфичных к Fc-области IgG человека, с DAR от 1,2 до 1,5. Планшеты инкубировали в течение 3 суток с последующим лизисом в реагенте для анализа CellTiter-Glo (CTG) (Promega, Мэдисон, штат Висконсин, США). Люминесценцию CTG измеряли на планшет-ридере Envision, а среднее значение и стандартное отклонение для 4 повторов отображали на графике Prism (GraphPad, Ла-Хойя, штат Калифорния, США). Для каждого антитела к TF IC_{50} и связанный с ней 95% доверительный интервал рассчитывали в Prism с использованием 4-параметрической модели связывания. Данные по жизнеспособности клеток после инкубации с антителами к TF и комплексами антител к TF Fab:MMAF показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. 95% доверительные интервалы для значений IC_{50} показаны в **Таблице 46**.

[00692] Интернализацию антител к TF также оценивали с помощью количественного анализа, основанного на интернализованной флуоресценции и тушенной поверхностной флуоресценции. Тушение флуоресценции клеточной поверхности оценивали, как описано в Liao-Chan et al., PLoS One, 2015, 10:e0124708. Вкратце, $1,2 \times 10^5$ клеток MDA-MB-231 предварительно инкубировали со 100 нМ конъюгированных с A488 антител в среде в течение 2 часов на льду. После 2 промывок клетки ресуспендировали в холодной среде и подвергали импульсной обработке в течение 4 часов при 37°C. Клетки быстро охлаждали и инкубировали с 300 нМ антитела к A488 (клон 19A) или без него в течение 30 мин на льду. После двух промываний мертвые клетки метили DAPI, и образцы анализировали на проточном цитометре Novocyte (ACEA Biosciences). Медианные интенсивности флуоресценции (MFI) при каждой концентрации мАт к A488 нормализовали относительно изотипического контроля для получения нормализованного процента MFI. Интернализованная флуоресценция рассчитывалась на основе данных по замороженным и непогашенным образцам с поправкой на неполное гашение поверхности: $1 - (N_1 - Q_1) / (N_1 - (N_1 Q_0 / N_0))$ с N_1 = непогашенная МИФ в каждый момент времени (t_1); Q_1 = погашенная МИФ в t_1 ; Q_0 = погашенная МИФ для образца, хранящегося на льду (t_0); N_0 = непогашенная МИФ в t_0 . Процент интернализации антител к TF, конъюгированных с A488, показан в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[00693] Поскольку Fab: MMAF связывает Fc-область TF-специфических антител, клеточное поглощение этих комплексов может вызвать гибель клеток. Хотя одни только TF-специфические антитела не влияли на жизнеспособность клеток в трехдневных культурах положительных по TF клеток A431, TF-специфические антитела в комплексе с Fab: MMAF показали дозозависимое уничтожение клеток со значениями IC₅₀ в диапазоне от 0,07 до 0,14 нМ. (См. международную заявку PCT PCT/US2019/012427 и заявку на патент США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки).

[00694] Поглощение клетками подтверждалось флуоресцентно меченными TF-специфическими антителами. В количественном анализе, основанном на интернализированной флуоресценции и тушении поверхностной флуоресценции, TF-специфические антитела показали интернализацию от 28 до 37% после 4-часовой инкубации. (См. международную заявку PCT PCT/US2019/012427 и заявку на патент США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки).

[00695] Эти результаты показывают, что тестируемые антитела к TF могут лечить интернализацию и доставку токсина в TF-позитивные клетки.

Таблица 46 Данные ADC с ранжированием (непрерывная инкубация). *Фигуры, на которые ссылаются, показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

	Клеточная линия:	A431			A431			MDA-MB-231			HPAF-II			Ранг непрерывного первичного ADC
	Формат ADC:	Вторичный ADC			Первичный ADC			Первичный ADC			Первичный ADC			
	Лечение:	Непрерывно			Непрерывно			Непрерывно			Непрерывно			
	Фиг.:	Фиг. 18B*			Фиг. 20A*			Фиг. 22D*			Фиг. 22E*			
	Данные связывания:	IC ₅₀ (нМ)	95% CI	ранг	IC ₅₀ (нМ)	95% CI	ранг	IC ₅₀ (нМ)	95% CI	ранг	IC ₅₀ (нМ)	95% CI	ранг	
Антитело:	1F	0,07	от 0,06	Не включено	Не тестировалось			Не тестировалось			Не тестировалось			Не включено

		до 0,0 7	но										
25A	0,1 1	от 0,1 0 до 0,1 1	6	0,0 9	от 0,0 8 до 0,0 9	7	0,1 4	от 0,1 2 до 0,1 6	7	0,0 6	от 0,0 5 до 0,0 7	8	7
25A3	0,0 9	от 0,0 8 до 0,0 9	3	0,0 7	от 0,0 7 до 0,0 8	5	0,1 1	от 0,1 0 до 0,1 2	4	0,0 5	от 0,0 4 до 0,0 5	5	4
25G1	0,0 8	от 0,0 7 до 0,0 8	1	0,0 6	от 0,0 6 до 0,0 6	3	0,0 9	от 0,0 8 до 0,1 0	3	0,0 4	от 0,0 4 до 0,0 5	3	3
29E	0,1 0	от 0,0 9 до 0,1 0	4	0,0 6	от 0,0 5 до 0,0 6	2	0,0 7	от 0,0 7 до 0,0 8	2	0,0 4	от 0,0 4 до 0,0 5	2	2
39A	0,0 8	от 0,0 8 до 0,0 9	2	0,0 5	от 0,0 5 до 0,0 5	1	0,0 5	от 0,0 5 до 0,0 5	1	0,0 4	от 0,0 3 до 0,0 5	1	1
43B1	0,1 2	от 0,1	7	0,0 8	от 0,0	6	0,1 4	от 0,1	5	0,0 5	от 0,0	4	5

		1 до 0,1 3			8 до 0,0 8			3 до 0,1 5			4 до 0,0 6		
43D7	0,1 0	от 0,1 0 до 0,1 0	5	0,0 6	от 0,0 6 до 0,0 7	4	0,1 4	от 0,1 2 до 0,1 6	6	0,0 5	от 0,0 5 до 0,0 6	6	6
43Ea	0,1 3	от 0,1 3 до 0,1 4	8	0,0 9	от 0,0 9 до 0,1 0	8	0,1 5	от 0,1 3 до 0,1 7	8	0,0 6	от 0,0 5 до 0,0 6	7	8
54E	0,1 1	от 0,1 1 до 0,1 2	He вкл юче но	0,0 7	от 0,0 7 до 0,0 7	He вкл юче но	He тестировалос ь		He тестировалос ь		He включе но		
Изотип	He применимо			He применимо			He применимо		He применимо		He включе но		
TF-011	He тестировалось			0,0 5	от 0,0 5 до 0,0 5		He тестировалос ь		He тестировалос ь		He включе но		

Таблица 47 Данные ADC с ранжированием (4 ч инкубация). *Фигуры, на которые ссылаются, показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

	Клеточная линия:	A431			A431			Ранг 4 ч первичного ADC
	Формат ADC:	Первичный ADC			Первичный ADC			
	Лечение:	4 ч, с последующим вымыванием			4 ч, с последующим вымыванием			
	Фиг.:	Фиг. 20B*			Фиг. 21A*			
	Измерение:	IC ₅₀ (нМ)	95% CI	ранг	IC ₅₀ (нМ)	95% CI	ранг	
Антитело:	1F	Не тестировалось			Не тестировалось			Не включено
	25A	0,35	от 0,32 до 0,39	6	0,18	от 0,17 до 0,19	6	6
	25A3	0,19	от 0,17 до 0,21	3	0,12	от 0,11 до 0,12	3	3
	25G1	0,19	от 0,17 до 0,20	2	0,10	от 0,09 до 0,10	2	2
	29E	0,20	от 0,18 до 0,21	4	0,13	от 0,12 до 0,14	4	4
	39A	0,12	от 0,11 до 0,13	1	0,09	от 0,09 до 0,10	1	1
	43B1	0,36	от 0,32 до 0,41	7	0,19	от 0,17 до 0,20	7	7
	43D7	0,28	от 0,25 до 0,30	5	0,14	от 0,13 до 0,15	5	5
	43Ea	0,43	от 0,39 до 0,48	8	0,24	от 0,22 до 0,25	8	8
	54E	0,26	от 0,24 до 0,29		0,20	от 0,18 до 0,22		Не включено
	Изотип	Не применимо			Не применимо			Не включено

			от 0,16 до			от 0,09 до	Не включен
	TF-011	0,17	0,18		0,09	0,10	о

Пример 29. Клеточный анализ связывания конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC)

[00696] Для оценки свойств связывания ADC с клетками, связывание антител к TF и ADC к TF с эндогенными клетками TF человека, экспрессирующими HCT116, оценивали, как описано ранее в Liao-Chan et al., PLoS One, 2015, 10:e0124708, который полностью включен посредством ссылки. Вкратце, $1,2 \times 10^5$ клеток, собранных с помощью Cellstripper (Mediatech, Манассас, штат Вирджиния, США), инкубировали с 12-точечным разведением 1:3 антитела к TF человека или ADC, начиная с 100 нМ в течение 2 часов на льду. После 2 промываний клетки, меченные антителом или ADC, инкубировали в течение 30 мин на льду с 150 нМ козьего фикоэритрина (PE) козьего F(ab')₂-фрагмента к IgG человека, специфичного к фрагменту Fcγ (Jackson ImmunoResearch, Уест-Гроув, штат Пенсильвания, США) или меченного FITC фрагмента козьего F(ab')₂ к каппа человека (SouthernBiotech, Бирмингем, штат Алабама, США), соответственно. После 2 промываний мертвые клетки метили йодидом TO-PRO-3 (ThermoFisher Scientific), а образцы анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, Бреа, штат Калифорния, США) или проточном цитометре Novocyte (ACEA Biosciences, Сан-Диего, штат Калифорния, США). Медианные интенсивности флуоресценции (MFI) для каждого разведения были нанесены на график и рассчитаны EC₅₀ клеток с использованием 4-параметрической модели связывания в Prism (GraphPad, Ла Жолоа, штат Калифорния, США). Кривые связывания антител к TF и ADC к TF показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. Регистрируемые EC₅₀ клеток и их 95% доверительные интервалы для антител к TF и ADC показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[00697] Как показано в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включенных в данный документ посредством ссылки, свойства клеточного связывания TF-специфическими ADC сравнимы со свойствами клеточного связывания TF-специфическими антителами, что указывает на то, что процесс конъюгации ADC не изменяет свойства связывания клеток TF-специфическим компонентом в виде антитела из ADC.

Пример 30. Анализы цитотоксичности конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC)

[00698] Для оценки цитотоксичности ADC клетки A431 высевали в 384-луночные планшеты (Greiner Bio-One). Антитела к TF, конъюгированные с MC-vc-PAB-MMAE, серийно разводили, как показано. TF-специфические ADC добавляли к клеткам A431 либо

с инкубацией в течение 72 часов, либо с инкубацией в течение 4 часов с последующим удалением избытка ADC и культивированием еще в течение 68 часов. Клетки A431 лизировали в реагенте для анализа CTG после введения. Измеряли люминесценцию CTG, а среднее значение и стандартное отклонение для 4 повторов отображали на графике Prism. Для каждого ADC IC_{50} и связанный с ней 95% доверительный интервал рассчитывали в Prism с использованием 4-параметрической модели связывания.

[00699] Жизнеспособность клеток после титрования ADC к TF при непрерывной инкубации в течение 72 часов показана в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. Жизнеспособность клеток после титрования ADC к TF с 4-часовой инкубацией с последующим удалением избытка ADC и культивированием в течение еще 68 часов показана в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, включенной в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Регистрируемые значения IC_{50} для ADC как при непрерывной обработке, так и при импульсной обработке показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. 95% доверительные интервалы для IC_{50} непрерывного введения и импульсного введения приведены в **Таблице 46** и **Таблице 47** соответственно.

[00700] Оба введения приводили к эффективному уничтожению клеток с увеличением IC_{50} в 2,4-4,7 раза при удалении избытка ADC из культуры после 4-часовой инкубации по сравнению с 72-часовой инкубацией. Удаление избыточных 25A3 и 39A ADC оказало наименьшее влияние на IC_{50} , с увеличением в 2,7 и 2,4 раза с 0,07 и 0,05 нМ соответственно.

[00701] Эти результаты показывают, что, подобно TF-специфическим антителам, TF-специфические ADC претерпевают существенную клеточную интернализацию.

Пример 31. Анализы цитотоксичности в присутствии FVIIa

[00702] Чтобы понять, влияет ли FVIIa на активность TF-специфического ADC, мы обрабатывали клетки A431 в течение 4 часов с TF-специфическими ADC (антитела против TF, конъюгированные с MC-vc-PAB-MMAE) в отсутствие или в присутствии FVIIa и через 68 часов измеряли жизнеспособность клеток. Клетки A431 предварительно инкубировали в течение 30 мин без или с 50 нМ FVIIa перед добавлением титрования ADC к TF. Жизнеспособность клеток определяли с помощью CTG-анализа. Среднее значение и стандартное отклонение для 4 повторов были построены в Prism. Для каждого ADC IC_{50} рассчитывали в Prism с использованием 4-параметрической модели связывания.

[00703] Жизнеспособность клеток после титрования ADC к TF в отсутствие или в присутствии FVIIa показана в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. Регистрируемые значения IC_{50} для ADC в отсутствие или в присутствии FVIIa показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке

на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[00704] В то время как ADC, которые конкурировали с FVIIa (29E, 39A, 54E и TF-011), присутствие FVIIa отрицательно влияло по меньшей мере в 2,3 раза, ADC, которые не конкурировали с FVIIa (группа 25 и 43 антитела), были одинаково эффективны в отсутствие или в присутствии FVIIa.

[00705] Эти результаты показывают, что FVIIa не влияет на активность ADC к TF из групп 25 и 43.

Пример 32. Внутриклеточная сеть микротрубочек в присутствии конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC)

[00706] Иммунофлуоресценция внутриклеточной сети микротрубочек клеток была проведена для иллюстрации механизма действия ADC. См. Theunissen et al., *Methods Enzymol*, 2006, 409:251-284. Вкратце, клетки A431 или HPAF-II высевали на 8-луночные предметные стекла, обработанные поли-D-лизином (Corning Inc, Корнинг, штат Нью-Йорк, США). Через сутки культуральную среду заменяли средой, содержащей 5 нМ ADC. После двадцати часов воздействия ADC, клетки фиксировали в течение 15 минут при комнатной температуре 4% параформальдегидом (ThermoFisher Scientific). После трех промываний PBS клетки пермеабелизовали в течение 1 часа с помощью PBS, содержащего 0,3% Triton X-100 и 5% нормальной козьей сыворотки. Затем сети микротрубочек окрашивали в течение 3 часов кроличьими мАт к тубулину (11H10) (конъюгат Alexa Fluor 488) (Cell Signaling Technology, Дэнверс, штат Массачусетс, США) в PBS, содержащем 1% BSA и 0,3% Triton X-100. После трех промываний к клеткам добавляли реагент ProLong Gold Antifade с DAPI (ThermoFisher Scientific), и предметное стекло помещали для микроскопии с использованием покровного стекла 0,17 мм. Получение изображений проводили на флуоресцентном микроскопе DMi8 (Leica Microsystems, Буффало Гроув, штат Иллинойс, США), оборудованном камерой sCMOS. Программное обеспечение Leica LAS X использовали для получения оптимизированного для системы Z-стека размером от 6 до 7 микрон. Четкое двухмерное изображение из этого Z-стека было создано автоматически с помощью функции изображения с расширенной глубиной резкости (EDF). Репрезентативные изображения окрашивания тубулина в клетках A431 или HPAF-II показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[00707] В то время как ADC изотипического контроля не влиял на сеть микротрубочек, ADC 25A3 эффективно разрушал сеть микротрубочек как в клетках A431, так и в клетках HPAF-II.

[00708] Эти результаты показывают, что ADC к TF на основе MMAE индуцируют цитотоксичность в TF-позитивных раковых клетках за счет разрушения внутриклеточной сети микротрубочек.

Пример 33. Анализы цитотоксичности и блока G₂/M в HUVEC

[00709] Для оценки количества копий TF на клеточной поверхности эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC) собирали $1,2 \times 10^5$ HUVEC и инкубировали со 133 нМ антитела 5G9 к TF человека на основной цепи IgG2a мыши в течение 2 часов на льду. После 2 промываний гранулы QIFIKIT (Agilent) и клетки, меченные антителом к TF, инкубировали в течение 30 мин на льду с 150 нМ козьего фикоэритрина (PE) козьего F(ab')₂-фрагмента к IgG мыши, специфичного к фрагменту Fc-гамма (Jackson ImmunoResearch). После 2 промываний мертвые клетки метили йодидом TO-PRO-3 (ThermoFisher Scientific), а образцы анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter). После гейтирования отдельных живых клеток MFI определяли с помощью FlowJo (Flowjo, Ашленд, штат Орегон, США). Стандартная кривая с использованием гранул QIFIKIT была построена в Prism с использованием 5-параметрической модели связывания для определения количества копий. Нижний предел количественного определения составлял $1,9 \times 10^3$ сайтов связывания антител (также называемый числом копий), а верхний предел количественного определения составлял $8,0 \times 10^5$ сайтов связывания антител.

[00710] В ответ на повреждение воспалительные и ангиогенные факторы временно увеличивают экспрессию поверхностного TF в сосудистой сети. См. Holy et al., Adv Pharmacol, 2010, 59:259-592, включенной в качестве ссылки во всей своей полноте. Временное повышение уровня TF в клеточной культуре имитировалось обработкой HUVEC комбинацией воспалительных цитокинов (5 нг/мл IL1-бета, 25 нг/мл TNF-альфа и 50 нг/мл VEGF). Как показано в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652 (полностью включенные в данный документ посредством ссылки), уровни поверхностного TF увеличились с $2,4 \times 10^3$ копий в отсутствие воспалительных цитокинов до $1,2 \times 10^4$ копий через 6 ч лечения цитокинами. Поверхностный TF был примерно в 3 раза ниже после 20 часов обработки цитокинами по сравнению с 6 часами обработки, что указывает на то, что цитокин-индуцированная повышающая регуляция TF была временной.

[00711] Для анализа цитотоксичности ADC культуры HUVEC высевали в 96-луночные планшеты половинной площади. На следующие сутки к культурам добавляли комбинацию воспалительных цитокинов и титры ADC. Через четверо суток жизнеспособность культур оценивали путем лизиса в реагенте для анализа CellTiter-Glo (CTG). Как показано в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включенных в данный документ посредством ссылки, на жизнеспособность клеток культур HUVEC, обработанных воспалительными цитокинами, не влияли ADC к TF, 25A-vc-MMAE и 43Ea-vc-MMAE. Результаты показывают, что эндотелиальные клетки, обработанные воспалительными цитокинами, устойчивы к ADC к TF.

[00712] Для дальнейшего понимания устойчивости эндотелиальных клеток к ADC к TF, прогрессирование клеточного цикла оценивали через 24 часа после добавления цитокинов и ADC, специфических к TF. Блокирование в фазе G₂/M клеточного цикла

анализировали, как описано ранее в Theunissen et al, *Methods Enzymol*, 2006, 409:251-284. Вкратце, HUVEC с низким количеством пассажей (Lifeline Cell Technologies, Фредерик, штат Мэриленд, США), размноженные в эндотелиальной среде Vasculife VEGF-Mv (Lifeline Cell Technologies), и клетки HCT-116 высевали в 12-луночные планшеты. На следующий день среду удаляли и заменяли свежей средой (без цитокинов) или средой, содержащей 5 нг/мл IL1-бета, 25 нг/мл TNF-альфа и 50 нг/мл VEGF (с цитокинами). К клеткам добавляли титры связанных с MMAE ADC или свободного MMAE. После 24 ч обработки клетки фиксировали в ледяном 70% этаноле. Затем клетки промывали буфером для проточной цитометрии (PBS, 1% FBS, 0,1% тритона) и окрашивали в течение 1 часа фосфогистоном H3 (Ser10) в разведении 1:100 (конъюгат D2C8 PE, Cell Signaling Technology). После 2 промывок клетки обрабатывали в течение 20 минут 100 мкг/мл РНКазы А PureLink (ThermoFisher Scientific) с последующим добавлением красителя жизнеспособности иодид TO-PRO-3 (ThermoFisher Scientific). 40000 трансформатов было собрано на проточном цитометре Novocyte. В программе анализа данных Flowjo были исключены дубликаты клеток и анеуплоидные клетки. Сигнал pH3 был нанесен на график в зависимости от содержания ДНК для определения процентного содержания pH3-позитивных клеток.

[00713] Процент pH3-положительных клеток (% pH3) с титрами ADC к TF на HUVEC в отсутствие или в присутствии воспалительных цитокинов показан в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, включенных в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Процент pH3-положительных клеток (% pH3) с титрами ADC к TF на клетках HCT-116 показан в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[00714] В то время как TF-специфические ADC вызывали блокировку в фазе G₂/M клеточного цикла в клетках HCT-116, ADC не влияли на прогрессирование клеточного цикла в HUVEC с обработкой воспалительными цитокинами или без нее. Как и в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включенных в данный документ посредством ссылки, процент pH3-положительных клеток HCT-116 увеличился в 5 раз после обработки 25A-vc-MMAE по сравнению с лечением изотипом-vc-MMAE.

[00715] Как показано в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включенных в данный документ посредством ссылки, неконъюгированный MMAE увеличивает фосфорилирование гистона H3 в одинаковой степени как в клетках HCT-116, так и в HUVEC, что указывает на то, что устойчивость в эндотелиальных клетках специфична для ADC на основе MMAE.

[00716] Взятые вместе, эти результаты демонстрируют, что ADC к TF не влияют на жизнеспособность HUVEC в отсутствие или в присутствии воспалительных цитокинов.

Пример 34. Анализ фосфорилирования Erk

[00717] Для оценки фосфорилирования Erk клетки A431 высевали в 6-луночные планшеты (Corning) в среде на одну ночь. На следующие сутки клетки промывали один раз и лишали сыворотки путем добавления бессывороточной среды. После голодания клетки предварительно инкубировали со 100 нМ антител к TF в течение 30 минут при 37 °С. FVIIa вносили в лунки при концентрации 50 нМ и инкубировали в течение 20 минут при 37 °С для индукции p-ERK. После индукции клетки лизировали с помощью буфера для лизиса RIPA и экстракции с коктейлем протеазы Halt™ и ингибитора фосфатазы (ThermoFisher Scientific). Вестерн-блоттинг проводился с 20 мкг клеточного лизата с использованием Phospho-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) и p44/42 MAPK (Erk1/2) (137F5) (Cell Signaling Technology) в качестве первичных антител и пероксидазный аффинно чистый ослиный анти-кроличий IgG (H+L) (Jackson ImmunoResearch) в качестве вторичного антитела. Интенсивности ненасыщающих полос для pErk и Erk измеряли на Amersham AI600 (GE Healthcare). Каждую интенсивность pErk нормализовали относительно ее соответствующей интенсивности Erk и интенсивности образца без антител и по-FVIIa.

[00718] Результаты вестерн-блоттинга pErk и Erk показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. Обработка FVIIa индуцировала фосфорилирование Erk в 5,2 раза в культурах клеток без предварительной обработки антителами к TF. Индуцирование фосфорилирования Erk было устранено предварительной обработкой 1F, 39A и 54E (кратная индукция от 0,8 до 1,2) и ослаблено 29E и членами групп 25 и 43 (кратная индукция от 2,0 до 3,4).

[00719] Эти данные указывают на то, что антитела к TF ингибируют FVIIa-зависимую передачу сигналов TF при оценке фосфорилирования Erk.

Пример 35. Анализ антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ)

[00720] Для оценки активности АЗКЦ использовали основной набор АЗКЦ Reporter Bioassay Core Kit (Promega) в соответствии с протоколом производителя. Вкратце, клетки A431 высевали на микротитровальный планшет (Corning). На следующие сутки клетки инкубировали с титрованием по десяти точкам 1:3 антитело или ADC к TF, начиная с 50 нМ. В каждую лунку добавляли соотношение эффекторных клеток и клеток-мишеней АЗКЦ 8:1 и инкубировали в течение 6 часов при 37 °С. Реагент для анализа люциферазы Bio-Glo™ добавляли в каждую лунку для измерения люминесценции на планшет-ридере Envision (PerkinElmer, Уолтем, штат Массачусетс, США). Среднее значение и стандартное отклонение для 4 повторов были построены в Prism. Для каждого антитела и ADC EC₅₀ и связанный с ней 95% доверительный интервал рассчитывали в Prism с использованием 4-параметрической модели связывания.

[00721] Люминесценция репортера ADCC после инкубации с репортерной линией клеток Jurkat при повторном титровании антител к TF или ADC к TF показана в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США №

16/959652, включенных полностью в данный документ посредством ссылки. Значения EC_{50} люминесценции репортера ADCC для каждого антитела против TF или ADC показаны в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[00722] Все протестированные TF-специфические антитела и ADC вызывали люциферазозависимую люминесценцию со значениями EC_{50} в диапазоне от 0,18 нМ до 0,43 нМ.

[00723] Эти данные показывают, что как TF-специфические антитела, так и ADC могут индуцировать антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) через домен Fc IgG1 антитела.

Пример 36. Анализ аффинности связывания с TF свиньи и TF кролика

[00724] Проверяли способность некоторых антител связывать TF свиньи. Для измерений TF свиней на основе Biacore, данное антитело к TF было захвачено антителом к IgG человека, ковалентно связанным с чипом CM5 (GE Healthcare Bio-Sciences). Ассоциацию между антителами к TF и пятиточечным трехкратным титрованием свиного TF-His, начиная с 100 нМ, измеряли в течение 180-240 секунд. Затем измеряли диссоциацию между антителом к TF и TF-His в течение 1800 с. Кинетические данные были проанализированы и глобально аппроксимированы с использованием модели связывания 1:1. Значения K_D указанных антител к TF, измеренных в экспериментах на основе Biacore, показаны в **Таблице 48**.

[00725] Проверяли способность некоторых антител связывать TF кролика. Для измерений TF кролика на основе Biacore, данное антитело к TF было захвачено антителом к IgG человека, ковалентно связанным с чипом CM5 (GE Healthcare Bio-Sciences). Связь между антителом к TF и пятиточечным трехкратным титрованием кроличьего TF-His, начиная с 100 нМ, измеряли в течение 180-240 с. Затем измеряли диссоциацию между антителом к TF и TF-His в течение 1800 с. Кинетические данные были проанализированы и глобально аппроксимированы с использованием модели связывания 1:1. Значения K_D указанных антител к TF, измеренных в экспериментах на основе Biacore, показаны в **Таблице 48**.

[00726] Как показано в **Таблице 48**, антитела к hTF из групп 25 и 43 проявляют связывающую активность и перекрестную реактивность с TF свиньи и TF кролика. Напротив, антитела из групп 1 и 29 не проявляют активности связывания с TF свиньи или TF кролика.

Таблица 48 Кинетика антител в отношении TF свиней и TF кролика

Антитело	K_D свиньи, нМ	K_D кролика, нМ
1G	без связывания	без связывания
25A	18,7	50,5
25A3	5,5	12,4

25A5	5,2	5,4
25A5-T	4,5	5,4
25G	26,0	75,5
25G1	2,6	3,6
25G9	3,3	4,2
29D	без связывания	без связывания
43D7	8,8	6,8
43D8	19,2	7,7

без связывания*: от полного отсутствия связывания до слабого связывания, без сообщаемой K_D

Пример 37. Эпитоп-специфическая сортировка антител к TF

[00727] Чтобы установить различия в связывании эпитопа между антителами к TF человека, были проведены эксперименты по картированию химерных конструкций TF. Этот метод картирования позволяет различать эпитопы антител.

[00728] Поскольку все оцениваемые антитела к TF человека не связывают TF крысы, последовательность TF крысы использовали для конструирования химерных конструкций TF человека-крысы. Дизайн химерной конструкции человек-крыса определялся N- и C-концевыми доменами внеклеточного домена TF (аминокислоты 1-107 и 108-219 внеклеточного домена, соответственно), с выравниванием, приведенным в международной заявке PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, полностью включенных в данный документ посредством ссылки. На основании результатов картирования химер с использованием конструкций, представленных на Фиг. 36 международной заявки PCT PCT/US2019/012427 и заявки на полезную модель США № 16/959652, аминокислотный сегмент 141-194 крысы был заменен человеческой последовательностью (аминокислоты 136-189 внеклеточного домена hTF), с выравниванием, показанным в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. Дизайн трех конструкций TF человека с 1 или 2 заменами человек-крыса (hTF_K68N, hTF_K149N и hTF_N171H_T197K) был основан на известных контактных остатках K68, K149 и N171 и T197 для антитела 10H10 (Teplyakov et al., Cell Signal., 2017, 36:139-144), с выравниванием, показанным в международной заявке PCT PCT/US2019/012427 и в заявке на полезную модель США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[00729] Чтобы установить связывание антител к TF человека с различными конструкциями TF, клетки HEK293 трансфицировали плазмидой ДНК, коэкспрессирующей конструкцию TF и зеленый флуоресцентный белковый маркер. Для подгруппы антител титр антител (12-точечная серия разведений 1:3, начиная с 250 нМ) оценивали на выбранных конструкциях TF (см. международную заявку PCT PCT/US2019/012427 и заявку на полезную модель США № 16/959652, которые полностью

включены в данный документ посредством ссылки). Эти титры антител продемонстрировали, что концентрация антител 15 мкг/мл (100 нМ), используемая в **Таблицах 51 и 52** были подходящим для установления «процента связывания антител с конструкцией TF относительно hTF». Через двое суток после трансфекции клетки собирали с планшета для тканевых культур, окрашивали 15 мкг/мл указанного антитела к TF, промывали, окрашивали поликлональным антителом Alexa Fluor 647 к IgG-Fc человека, промывали и окрашивали красителем жизнеспособности 4',6-диамидино-2-фенилиндолом, дигидрохлоридом. После сбора 80000 живых трансформантов на проточном цитометре живые клетки, помеченные флуоресцентным маркером, анализировали на степень окрашивания антителом к TF. Медианные значения интенсивности флуоресценции относительно изотипического контроля для каждой конструкции экспрессии TF были разделены на медианное значение интенсивности флуоресценции относительно изотипического контроля для конструкции экспрессии hTF, и полученный процент указан как «Процент связывания антитела с конструкцией TF относительно hTF» в **таблицах 51 и 52**. Используемый в данном документе термин «анализ окрашивания живых клеток» относится к анализу связывания антител, используемому в данном примере.

[00730] Предположение, что все химерные конструкции TF экспрессировались на поверхности клетки на уровнях от 50% до 150% контрольной конструкции hTF, было принято для всех конструкций TF по меньшей мере для одного антитела к TF человека в коллекции антител, за исключением конструкции h1-107_r (аминокислотный сегмент 1-107 человека заменен последовательностью крысы). Ожидается отсутствие связывания антител к TF человека с крысы, экспрессируемым на клеточной поверхности. Когда «процент связывания антитела с конструкцией TF относительно hTF» в **Таблицах 51 и 52** составлял менее 50%, антитело считалось несвязывающим (0) в **Таблицах 53 и 54**. Когда «процент связывания антитела с конструкцией TF относительно hTF» в **Таблицах 51 и 52** составлял от 50% до 150%, антитело считалось несвязывающим (1) в **Таблицах 53 и 54**.

[00731] Каждое антитело было отнесено к группе эпитопа в **Таблице 55** на основании комбинации несвязанных конструкций из **Таблицы 53**. Антитела из группы 25 (25A, 25A3, 25A5-T, 25G1 и 25G9) связывают уникальный эпитоп, обозначенный как «эпитоп группы 6» в **Таблице 55**. Антитела из группы 43 (43B1, 43D7, 43D8 и 43Ea) также связывают уникальный эпитоп, обозначенный как «эпитоп группы 7» в **Таблице 55**. Антитело из группы 29 (29E) связывают уникальный эпитоп, обозначенный как «эпитоп группы 2» в **Таблице 55**. Антитела из групп 39 и 54 (39A и 54E) связывают уникальный эпитоп, обозначенный как «эпитоп группы 3» в **Таблице 55**.

[00732] Антитела групп 25 и 43 являются единственными антителами в панели антител, которые связывают r141-194_h, химерную конструкцию, в которой аминокислоты 141-194 крысы заменены последовательностью человека (**таблица 54**). Кроме того, хотя M1593 не может связывать hTF_K68N, все другие антитела в панели антител связывают hTF_K68N (**таблица 54**). Только антитела групп 25 и 43 не могут

связываться с hTF_K149N (**таблица 54**). Только антитела группы 25 не могут связывать hTF_N171H_T197K (**таблица 54**). (См. международную заявку РСТ РСТ/US2019/012427 и заявку на патент США № 16/959652, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки).

[00733] Таким образом, эти результаты демонстрируют, что антитела группы 25 связывают уникальный эпитоп на TF человека по сравнению со всеми другими протестированными антителами. Антитела группы 43 связывают уникальный эпитоп на TF человека по сравнению со всеми другими протестированными антителами. Антитела группы 25 и группы 43 связывают другой эпитоп на TF человека из M1593.

Таблица 51 Процент связывания антител с конструкцией TF относительно hTF

		Антитело															
		1F	29	39A	54	TF	5G	M	25	25	25A	25	25	43	43	43	43
	Конструкция	E	E		E	- 011	9	15 93	A	A3	5-T	G1	G9	B1	D7	D8	Ea
	hTF	100	100	100	100	100	100	10 0	10 0	100	100	100	100	100	100	100	100
	rTF	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Аминокислотный сегмент человека заменен сегментом крысы (в скобках: количество аминокислотных изменений относительно TF)	h1-107_r (52)	0	0	0	0	0	41	0	32	36	36	37	28	33	35	31	37
	h1-77_r (25)	0	0	0	0	0	94	0	86	95	84	88	64	64	75	69	69
	h1-38_r (14)	91	87	100	102	104	100	10 4	10 1	104	93	101	88	97	106	104	103
	h39-77_r (11)	0	0	0	0	0	88	2	82	88	80	87	71	59	75	71	69
	h78-107_r (21)	0	8	81	68	32	114	74	10 8	116	103	113	108	113	114	117	114
	h78-107_r. v2 (27)	0	0	76	62	23	101	59	95	96	91	94	93	97	100	101	101
	h78-	102	0	77	91	110	102	10	10	105	92	101	98	101	104	102	103

93_r (18)							4	6									
h94-107_r (9)	1	82	85	89	27	91	46	82	86	78	83	77	84	92	89	91	
h108-219_r (46)	119	118	118	122	128	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
h108-158_r (19)	98	101	107	108	108	63	4	1	0	0	11	22	0	1	0	0	
h108-132_r (10)	105	108	109	107	124	125	12 4	11 2	112	106	111	118	122	126	122	124	
h133-158_r (9)	113	122	119	130	134	91	0	0	0	0	2	3	0	4	1	0	
h133-145_r (4)	84	95	96	104	104	108	10 0	77	80	80	87	100	99	104	103	106	
h133-139_r (2)	82	90	95	103	102	104	10 3	88	89	88	91	86	94	101	97	101	
h140-145_r (2)	89	100	101	110	109	113	97	80	87	86	89	105	101	104	104	109	
h146-158_r (5)	115	122	125	134	134	91	13 3	2	17	18	17	0	3	20	10	0	
h146-151_r (1)	122	133	139	142	143	141	11 8	3	14	17	7	0	11	39	23	2	
h152-158_r (4)	110	121	128	127	136	82	13 2	11 0	116	112	116	111	119	134	129	134	

h159-219_r (27)	132	134	141	142	155	0	13 7	0	0	0	0	0	0	132	130	130	76
h159-189_r (11)	94	101	104	110	112	0	10 5	0	0	0	0	0	0	100	106	104	94
h159-174_r (6)	96	98	101	118	120	0	98	0	0	0	0	0	0	103	115	112	101
h159-166_r (3)	89	93	96	100	98	104	10 0	93	95	87	91	88	99	106	105	110	
h167-174_r (3)	96	112	96	122	128	0	11 8	0	0	0	0	0	0	109	121	112	104
h175-189_r (5)	97	113	112	118	123	119	11 4	86	95	99	100	86	109	118	114	122	
h190-219_r (16)	111	138	149	141	145	12	14 3	12 5	124	119	127	144	133	140	136	147	

Таблица 52 Процент связывания антител с конструкцией TF относительно hTF

	Антитело															
Конструкции	1F	29E	39A	54E	-011	TF5G9	M1593	25A	25A3	25A5-T	25G1	25G9	43B1	43D7	43D8	43Ea
hTF	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
rTF	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
r141-194_h*	0	0	0	0	0	32	0	65	89	88	83	108	90	102	95	81
hTF_K68N	105	115	119	118	111	132	0	93	124	126	115	103	107	116	119	118
hTF_K149N	115	11	13	12	13	14	111	2	12	13	7	0	10	29	20	1

		7	1	7	2	5										
hTF_N171H_ T197K	83	98	94	89	10 9	10 2	113	1	4	7	1	0	98	101	103	118

*аминокислотный сегмент крысы заменен сегментом человека, что приводит к замене 20 аминокислот

Таблица 53 Связывание антител с конструкцией TF

[illegible]

132_r (10)																	
h133-158_r (9)	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
h133-145_r (4)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
h133-139_r (2)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
h140-145_r (2)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
h146-158_r (5)	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
h146-151_r (1)	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
h152-158_r (4)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
h159-219_r (27)	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
h159-189_r (11)	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
h159-174_r (6)	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
h159-166_r (3)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
h167-174_r (3)	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
h175-189_r (5)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
h190-219_r (16)	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Таблица 54 Связывание антител с конструкцией TF

	Антитело															
Конструкции	1 F	29 E	39 A	54 E	TF - 01	5G 9	M15 93	25 A	25A 3	25A 5-T	25G 1	25G 9	43B 1	43D 7	43D 8	43E a

					1											
hTF	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
rTF	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
r141-194_h*	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
hTF_K68N	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
hTF_K149N	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
hTF_N171H_T 197K	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1

*аминокислотный сегмент крысы заменен сегментом человека, что приводит к замене 20 аминокислот

Таблица 55 Назначение групп эпитопа на основе несвязанных химерных конструкций

Антитело	Конструкции, не связанные антителами	Группа эпитопа
1F	rTF, h1-107_r, h1-77_r, h39-77_r, h78-107_r, h78-107_r.v2, h94-107_r	1
29E	rTF, h1-107_r, h1-77_r, h39-77_r, h78-107_r, h78-107_r.v2, h78-93_r	2
39A	rTF, h1-107_r, h1-77_r, h39-77_r	3
54E	rTF, h1-107_r, h1-77_r, h39-77_r	3
TF-011	rTF, h1-107_r, h1-77_r, h39-77_r, h78-107_r, h78-107_r.v2, h94-107_r	1
5G9	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h159-219_r, h159-189_r, h159-174_r, h167-174_r, h190-219_r	4
M1593	rTF, h1-107_r, h1-77_r, h39-77_r, h94-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r	5
25A	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r, h159-219_r, h159-189_r, h159-174_r, h167-174_r	6
25A3	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r, h159-219_r, h159-189_r, h159-174_r, h167-174_r	6
25A5-T	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r,	6

	h146-151_r, h159-219_r, h159-189_r, h159-174_r, h167-174_r	
25G1	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r, h159-219_r, h159-189_r, h159-174_r, h167-174_r	6
25G9	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r, h159-219_r, h159-189_r, h159-174_r, h167-174_r	6
43B1	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r	7
43D7	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r	7
43D8	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r	7
43Ea	rTF, h1-107_r, h108-219_r, h108-158_r, h133-158_r, h146-158_r, h146-151_r	7

[00734] Хотя изобретение было конкретно показано и описано со ссылкой на предпочтительный вариант осуществления и различные альтернативные варианты осуществления, специалистам в соответствующей области техники будет понятно, что в него могут быть внесены различные изменения в форме и деталях, не выходя за рамки сущности и объема изобретения.

[00735] Все ссылки, выданные патенты и заявки на патенты, цитируемые в тексте данного описания, включены в данный документ посредством ссылки во полном объеме для всех целей.

Последовательности

Таблица 13 Последовательности варибельной области

Клон	Домены VH (SEQ ID NO)	Домены VL (SEQ ID NO)
1F	EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAAS GFTFSDYAMGWVRQAPGKGLEWV STISGSGGLTYYADSVKGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA KAPYGYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO:37)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQ SISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASS LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD DFATYYCQQYKSYITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:38)
1G	EVQLLES GGGGLVQP GGS LRLSCAAS GFTFSSYAMAWVRQAPGKGLEWV SAISGSGGLTYYADSVKGRFTISR NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQ SISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASS LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD DFATYYCQQYKSYITFGGGTKVEIK

	KAPYGYMDVWVGKTTVTVSS (SEQ ID NO:75)	(SEQ ID NO:76)
25A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEW MGWIAPYNGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARDAGTYSPPFGYGMDVWGQGT TVTVSS (SEQ ID NO:113)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCRASQ SISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASS LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD DFATYYCQQFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:114)
25A3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEW MGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARDAGTYSPPFGYGMDVWGQGT TVTVSS (SEQ ID NO:151)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCQASQ SINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAY NLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD DDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI K (SEQ ID NO:152)
25A5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEW MGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARDAGTYSPPFGYGMDVWGQGT TVTVSS (SEQ ID NO:189)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCRASE SISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYS LEYGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD DFATYYCQQFQKLPPFTFGGGTKVEI K (SEQ ID NO:190)
25A5 -T	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFDAYGISWVRQAPGQGLEW MGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVTM TTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARDAGTYSPPFGYGMDVWGQGT TVTVSS (SEQ ID NO:836)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCRASE SISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYS LEYGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD DFATYYCQQFQKLPPFTFGGGTKVEI K (SEQ ID NO:837)
25G	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWM GWVAPYNGNTNYAQKLQGRVTMT TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY CARDAGTYSPPYGYGMDVWGQGT TVTVSS (SEQ ID NO:227)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCRASQ SISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASS LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD DFATYYCQQFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:228)
25G1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWM GWVAPYSGNTNYAQKLQGRVTMT	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCRASH SIDSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASY LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD

	TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY CARDAGTYSPYGYGMDVWGQGT TVSS (SEQ ID NO:265)	DFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:266)
25G9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCA SGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWM GWVAPYSGNTNYAQKLQGRVTMT TDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYY CARDAGTYSPYGYGMDVWGQGT TVSS (SEQ ID NO:303)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCQASQ SIDSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASY LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD DFATYYCQRFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:304)
29D	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAA SGFTFHSRGMHWVRQAPGKGLEW VAVITYDGINKYYADSVEGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGVYYGVYDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:341)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQ SVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKL LIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYCQQFHSYPLTFG GGTKVEIK (SEQ ID NO:342)
29E	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAA SGFTFRSYGMHWVRQAPGKGLEW VAVITYDGINKYYADSVEGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGVYYGVYDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:379)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQ SVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKL LIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYCQQFHSYPLTFG GGTKVEIK (SEQ ID NO:380)
39A	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCA SGGTFSSNAIGWVRQAPGQGLEWM GSIPIIGFANYAQKFQGRVTITADES TSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARD SGYYYGASSFGMDVWGQGTTVTV SS (SEQ ID NO:417)	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQ SVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGAST RATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSE DFAVYYCEQYNNLPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:418)
43B	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS GGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWI GEIYYSGSTRYNPSLKSRTVISVDT KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD APYYYGGGYYYMDVWGKGTTV TVSS (SEQ ID NO:455)	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQ VSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASS RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQVGVVPYTFGGGKVEI K (SEQ ID NO:456)
43B1	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS GGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWI	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASES VDSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAST

	GEIYYSGSTRYNPSLKSRTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD APYYYGGGYYYYMDVWGKGTTV TVSS (SEQ ID NO:493)	RQTGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQAGVVPYTFGGGKVEI K (SEQ ID NO:494)
43B7	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS GGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWI GEIYYSGSTRYNPSLKSRTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD APYYYGGGYYYYMDVWGKGTTV TVSS (SEQ ID NO:531)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASES VDSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAD SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEP EDFAVYYCQQDGVVPYTFGGGKVE IK (SEQ ID NO:532)
43D	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCV YGGSLSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIGASGSTRYNPSLKSRTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD TPYYYEGGYYYYMDVWGKGTTVT VSS (SEQ ID NO:569)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQS VSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASS RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQVGVVPYTFGGGKVEI K (SEQ ID NO:570)
43D7	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCV YGGSLSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIGASGSTRYNPSLKSRTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD TPYYYEGGYYYYMDVWGKGTTVT VSS (SEQ ID NO:607)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASDS VDSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFS RANGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQAGVVPYTFGGGKVEI K (SEQ ID NO:608)
43D8	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCV YGGSLSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIGASGSTRYNPSLKSRTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD TPYYYEGGYYYYMDVWGKGTTVT VSS (SEQ ID NO:645)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQS VSSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGAYS RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQAGVVPYTFGGGKVEI K (SEQ ID NO:646)
43E	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS GGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWI GEIYYSGSTRYNPSLKSRTISVDTS KDQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD TPYYYDGGYYYMDVWGKGTTVT VSS (SEQ ID NO:683)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQS VSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASS RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQVGVVPYTFGGGKVEI K (SEQ ID NO:684)
43Ea	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQS

	GGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWI GEIYYSGSTRYNPSLKSRTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD TPYYYDGGYYYYMDVWGKGTTVT VSS (SEQ ID NO:721)	VSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASS RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQVGVVPTYFGGGTKVEI K (SEQ ID NO:722)
54E	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFANYMHWRQAPGQGLEW MGIINPSGGITVYAQKFQGRVTMTR DTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCA RGGSKVAALAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:759)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQ DISNSLNWYQQKPGKAPKLLIYDASN LETGVPSRFSGSRSGTDFTFTISSLQPE DIATYYCQQYNFHPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:760)

Таблица 14 Консенсусная последовательности варибельной области

Группа	Консенсусные последовательности домена VH (SEQ ID NO)	Консенсусные последовательности домена VL (SEQ ID NO)
1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFS _x [D/S]YAM _x [A/G]WVR QAPGKGLEWVS _x [A/T]ISGSGGL TYYADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAKAPY GYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:761)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITTCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKA SSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISL QPDDFATYYCQYKSYITFGGGTKV EIK (SEQ ID NO:762)
25	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTF _x [D/R] _x [S/V/A]YGISW VRQAPGQGLEWMGW _x [I/V]APY _x [S/N]GNTNYAQKLQGRVTMTT DTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARDAGTYSP _x [F/Y]GYGMDV WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:763)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITTC _x [R/ Q]AS _x [Q/E/H]SI _x [S/D/N] _x [S/N]WLAW YQQKPGKAPKLLIY _x [K/S]A _x [S/Y] _x [S /Y/N]LE _x [S/Y]GVPSRFSGSGSGTEFT LTISLQPDDFATYYCQ _x [Q/L/R]FQ _x [S/K]LPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:764)
29	QVQLVESGGGVVQGRSLRLSC AASGFTF _x [H/R]S _x [R/Y]GMHWV RQAPGKGLEWVAVITYDGINKY YADSVGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARDGVYY GVYDYWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO:765)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSS QSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTD FTLTISLQAEDVAVYYCQQFHSYPL TFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:766)
39	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC KASGGTFSSNAIGWVRQAPGQG LEWMGSIIPIIGFANYAQKFQGR VTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARDGSGYYYGASSFGM DVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:767)	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRAS QSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGA STRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISL QSEDFAVYYCEQYNNLPLTFGGGTK VEIK (SEQ ID NO:768)
43	QVQLQ _x [E/Q] _x [S/W]G _x [P/A]GL _x [V/L]KPS _x [Q/E]TSLTLC _x [T/A]V _x [	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRAS _x [Q/E/D]SV _x [S/D]SS _x [Y/F]LAWYQQKP

Группа	Консенсусные последовательности домена VH (SEQ ID NO)	Консенсусные последовательности домена VL (SEQ ID NO)
	S/Y]GGSx[I/L]SSGx[Q/Y]YWSWI RQx[H/P]PGKGLEWIGEx[Y/G]x[Y/A]SGSTRYNPSLKS RVTISVDT SKx[N/D]QFSLKLSSVTAADTAV YYCARDx[T/A]PYYYx[E/G/D]GG YYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:769)	GQAPRLLIYGAx[S/D/F/Y]x[S/T]Rx[A/ Q]x[T/N]GIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQQx[V/A/D]GVVPPYT FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:770)
54	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFANYMHWRQAPGQ GLEWMGIINPSGGITVYAQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARGGSKVAALAFDIW GQGTMVTVSS (SEQ ID NO:771)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQAS QDISNSLNWYQKPGKAPKLLIYDA SNLETGVPSRFSGSRSGTDFTFITSSL QPEDIATYYCQQYNFHPLTFGGGK VEIK (SEQ ID NO:772)

Таблица 15 Последовательности CDR антитела 1F

		Иллюстр ативная*	Kabat	Chothia	AbM	Контак т	IMGT
Посл. CDR VH	CDR 1 VH	GFTFSD YAMG (SEQ ID NO:1)	DYAMG (SEQ ID NO:7)	GFTFSDY (SEQ ID NO:13)	GFTFSDY AMG (SEQ ID NO:19)	SDYA MG (SEQ ID NO:25)	GFTFS DYA (SEQ ID NO:31)
	CDR 2 VH	TISGSGG LTYAD	TISGSGGL TYADSV	GSGG (SEQ ID	TISGSGG LTY	WVSTI SGSGG	ISGSG GLT

		SVKG (SEQ ID NO:2)	KG (SEQ ID NO:8)	NO:14)	(SEQ ID NO:20)	LTY (SEQ ID NO:26)	(SEQ ID NO:32)
	<i>CDR 3 VH</i>	APYGY MDV (SEQ ID NO:3)	APYGYM DV (SEQ ID NO:9)	PYGYMD (SEQ ID NO:15)	APYGY MDV (SEQ ID NO:21)	AKAPY GYM D (SEQ ID NO:27)	AKAPY GYM DV (SEQ ID NO:33)
Посл. CDR VL	<i>CDR 1 VL</i>	RASQSI SWLA (SEQ ID NO:4)	RASQSI WLA (SEQ ID NO:10)	SQSISSW (SEQ ID NO:16)	RASQSI SWLA (SEQ ID NO:22)	SSWLA WY (SEQ ID NO:28)	QSISS W (SEQ ID NO:34)
	<i>CDR 2 VL</i>	KASSLE S (SEQ ID NO:5)	KASSLES (SEQ ID NO:11)	KAS (SEQ ID NO:17)	KASSLES (SEQ ID NO:23)	LLIYK ASSLE (SEQ ID NO:29)	KAS (SEQ ID NO:35)
	<i>CDR 3 VL</i>	QQYKSY IT (SEQ ID NO:6)	QQYKSYIT (SEQ ID NO:12)	YKSYI (SEQ ID NO:18)	QQYKSYI T (SEQ ID NO:24)	QQYKS YI (SEQ ID NO:30)	QQYKS YIT (SEQ ID NO:36)

		SVKGG (SEQ ID NO:2)	KG (SEQ ID NO:8)	NO:14)	(SEQ ID NO:20)	LTY (SEQ ID NO:26)	(SEQ ID NO:32)
	<i>CDR 3 VH</i>	APYGYG MDV (SEQ ID NO:3)	APYGYGM DV (SEQ ID NO:9)	PYGYGMD (SEQ ID NO:15)	APYGYG MDV (SEQ ID NO:21)	AKAPY GYGM D (SEQ ID NO:27)	AKAPY GYGM DV (SEQ ID NO:33)
Посл. CDR VL	<i>CDR 1 VL</i>	RASQSG SWLA (SEQ ID NO:4)	RASQSGS WLA (SEQ ID NO:10)	SQSGSSW (SEQ ID NO:16)	RASQSG SWLA (SEQ ID NO:22)	SSWLA WY (SEQ ID NO:28)	QSGSS W (SEQ ID NO:34)
	<i>CDR 2 VL</i>	KASSLE S (SEQ ID NO:5)	KASSLES (SEQ ID NO:11)	KAS (SEQ ID NO:17)	KASSLES (SEQ ID NO:23)	LLIYK ASSLE (SEQ ID NO:29)	KAS (SEQ ID NO:35)
	<i>CDR 3 VL</i>	QQYKSY IT (SEQ ID NO:6)	QQYKSYIT (SEQ ID NO:12)	YKSYI (SEQ ID NO:18)	QQYKSYI T (SEQ ID NO:24)	QQYKS YI (SEQ ID NO:30)	QQYKS YIT (SEQ ID NO:36)
Последовательность VH*: EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSDYAMGWVRQAPGKGLEWVSTISGSGG LTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK APYGYGMDVWGKG TTVTVSS (SEQ ID NO:37)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSGSSWLA WYQQKPGKAPKLLIYKASSLES GV PSRFGSGSGTEFTLTISLQPD DFATYYCQQYKSYIT FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:38)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 16 Последовательности CDR антитела 1G

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл.	<i>CDR</i>	GFTFSSY	SYAMA	GFTFSSY	GFTFSSY	SSYAM	GFTFSS

CDR VH	<i>1 VH</i>	AMA (SEQ ID NO:39)	(SEQ ID NO:45)	(SEQ ID NO:51)	AMA (SEQ ID NO:57)	A (SEQ ID NO:63)	YA (SEQ ID NO:69)
	<i>CDR 2 VH</i>	AISGSGG LTYYAD SVKG (SEQ ID NO:40)	AISGSGG LTYYAD SVKG (SEQ ID NO:46)	GSGG (SEQ ID NO:52)	AISGSGG LTY (SEQ ID NO:58)	WVSAIS GSGGL TY (SEQ ID NO:64)	ISGSGG LT (SEQ ID NO:70)
	<i>CDR 3 VH</i>	APYGY MDV (SEQ ID NO:41)	APYGY MDV (SEQ ID NO:47)	PYGYM D (SEQ ID NO:53)	APYGY MDV (SEQ ID NO:59)	AKAPY GYMD (SEQ ID NO:65)	AKAPY GYMD V (SEQ ID NO:71)
Посл. CDR VL	<i>CDR 1 VL</i>	RASQSI SWLA (SEQ ID NO:42)	RASQSI SWLA (SEQ ID NO:48)	QSISW (SEQ ID NO:54)	RASQSI SWLA (SEQ ID NO:60)	SSWLA WY (SEQ ID NO:66)	QSISW (SEQ ID NO:72)
	<i>CDR 2 VL</i>	KASSLE (SEQ ID NO:43)	KASSLE (SEQ ID NO:49)	KAS (SEQ ID NO:55)	KASSLE (SEQ ID NO:61)	LLIYKA SSLE (SEQ ID NO:67)	KAS (SEQ ID NO:73)
	<i>CDR 3 VL</i>	QQYKSY T (SEQ ID NO:44)	QQYKSY T (SEQ ID NO:50)	YKSY (SEQ ID NO:56)	QQYKSY IT (SEQ ID NO:62)	QQYKS YI (SEQ ID NO:68)	QQYKS YIT (SEQ ID NO:74)
Последовательность VH*: EVQLLES GGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSSYAMAWVRQAPGKGLEWVSAISGSG GLTYYADSVKGR FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAPYGYMDVW GKGTTVTVSS (SEQ ID NO:75)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESG VPSRFGSGSGTEFTLTISLQPD DFATYYCQQYKSYITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:76)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 17 Последовательности CDR антитела 25A

		Иллюстр ативная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR 1 VH</i>	GYTFDV YGIS (SEQ ID NO:77)	VYGIS (SEQ ID NO:83)	GYTFDV Y (SEQ ID NO:89)	GYTFDV YGIS (SEQ ID NO:95)	DVYGIS (SEQ ID NO:101)	GYTFDV YG (SEQ ID NO:107)
	<i>CDR 2 VH</i>	WIAPYN GNTNYA QKLQG (SEQ ID NO:78)	WIAPYN GNTNYA QKLQG (SEQ ID NO:84)	PYNG (SEQ ID NO:90)	WIAPYN GNTN (SEQ ID NO:96)	WMGWI APYNGN TN (SEQ ID NO:102)	IAPYNGN T (SEQ ID NO:108)
	<i>CDR 3 VH</i>	DAGTYS PFGYGM DV (SEQ ID NO:79)	DAGTYS PFGYGM DV (SEQ ID NO:85)	AGTYSP FGYGMD (SEQ ID NO:91)	DAGTYS PFGYGM DV (SEQ ID NO:97)	ARDAGT YSPFGY GMD (SEQ ID NO:103)	ARDAGT YSPFGTG MDV (SEQ ID NO:109)
Посл. CDR VL	<i>CDR 1 VL</i>	RASQSIG SWLA (SEQ ID NO:80)	RASQSIG SWLA (SEQ ID NO:86)	SQSISSW (SEQ ID NO:92)	RASQSIG SWLA (SEQ ID NO:98)	SSWLAW Y (SEQ ID NO:104)	QSISSW (SEQ ID NO:110)
	<i>CDR 2 VL</i>	KASSLES (SEQ ID NO:81)	KASSLES (SEQ ID NO:87)	KAS (SEQ ID NO:93)	KASSLES (SEQ ID NO:99)	LLIYKAS SLE (SEQ ID NO:105)	KAS (SEQ ID NO:111)
	<i>CDR 3 VL</i>	QQFQSL PPFT (SEQ ID NO:82)	QQFQSL PPFT (SEQ ID NO:88)	FQSLPPF (SEQ ID NO:94)	QQFQSL PPFT (SEQ ID NO:100)	QQFQSL PPF (SEQ ID NO:106)	QQFQSLP PFT (SEQ ID NO:112)
Последовательность VH*:							
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPY NGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSYSPFGY							

GMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:113)
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESG VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:114)

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 18 Последовательности CDR антитела 25A3

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR 1 VH</i>	GYTFDV YGIS (SEQ ID NO:115)	VYGIS (SEQ ID NO:121)	GYTFD VY (SEQ ID NO:127)	GYTFDV YGIS (SEQ ID NO:133)	DVYGIS (SEQ ID NO:139)	GYTFDV YG (SEQ ID NO:145)
	<i>CDR 2 VH</i>	WIAPYS GNTNYA QKLQG (SEQ ID NO:116)	WIAPYS GNTNYA QKLQG (SEQ ID NO:122)	PYSG (SEQ ID NO:128)	WIAPYS GNTN (SEQ ID NO:134)	WMGWIA PYSGNTN (SEQ ID NO:140)	IAPYSGN T (SEQ ID NO:146)
	<i>CDR 3 VH</i>	DAGTYS PFGYGM DV (SEQ ID NO:117)	DAGTYS PFGYGM DV (SEQ ID NO:123)	AGTYS PFGYG MD (SEQ ID NO:129)	DAGTYS PFGYGM DV (SEQ ID NO:135)	ARDAGTY SPFGYGM D (SEQ ID NO:141)	ARDAGT YSPFGT GMDV (SEQ ID NO:147)
Посл. CDR VL	<i>CDR 1 VL</i>	QASQSIN NWLA (SEQ ID NO:118)	QASQSIN NWLA (SEQ ID NO:124)	SQSINN W (SEQ ID NO:130)	QASQSIN NWLA (SEQ ID NO:136)	NNWLAW Y (SEQ ID NO:142)	QSINN W (SEQ ID NO:148)
	<i>CDR 2 VL</i>	KAYNLE S (SEQ ID NO:119)	KAYNLE S (SEQ ID NO:125)	KAY (SEQ ID NO:131)	KAYNLE S (SEQ ID NO:137)	LLIYKAY NLE (SEQ ID NO:143)	KAY (SEQ ID NO:149)
	<i>CDR</i>	QLFQSLP	QLFQSLP	FQSLPP	QLFQSLP	QLFQSLPP	QLFQSLP

	3 VL	PFT (SEQ ID NO:120)	PFT (SEQ ID NO:126)	F (SEQ ID NO:132)	PFT (SEQ ID NO:138)	F (SEQ ID NO:144)	PFT (SEQ ID NO:150)
Последовательность VH*: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYS GNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYS ~~P~~ FGYG MDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:151)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYNLESG VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:152)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 19а Последовательности CDR антитела 25A5

		Иллюстр ативная*	Kabat	Chothia	AbM	Контак т	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR1 VH</i>	GYTFDV YGIS (SEQ ID NO:153)	VYGIS (SEQ ID NO:159)	GYTFD VY (SEQ ID NO:165)	GYTFD VYGIS (SEQ ID NO:171)	DVYGI S (SEQ ID NO:177)	GYTFDVYG (SEQ ID NO:183)
	<i>CDR2 VH</i>	WIAPYS GNTNYA QKLQG (SEQ ID NO:154)	WIAPYS GNTNY AQKLQ G (SEQ ID NO:160)	PYSG (SEQ ID NO:166)	WIAPY SGNTN (SEQ ID NO:172)	WMGW IAPYSG NTN (SEQ ID NO:178)	IAPYSGNT (SEQ ID NO:184)
	<i>CDR3 VH</i>	DAGTYS PFGYGM DV (SEQ ID NO:155)	DAGTYS PFGYG MDV (SEQ ID NO:161)	AGTYS PFGYG MD (SEQ ID NO:167)	DAGTY SPFGY GMDV (SEQ ID NO:173)	ARDAG TYS PF GYGM D (SEQ ID NO:179)	ARDAGTYS PFGTGMDV (SEQ ID NO:185)
Посл.	<i>CDR1</i>	RASESIS	RASESIS	SESISN	RASESI	SNWLA	ESISNW

CDR VL	<i>VL</i>	NWLA (SEQ ID NO:156)	NWLA (SEQ ID NO:162)	W (SEQ ID NO:168)	SNWLA (SEQ ID NO:174)	WY (SEQ ID NO:180)	(SEQ ID NO:186)
	<i>CDR2 VL</i>	KAYSLEY (SEQ ID NO:157)	KAYSLEY (SEQ ID NO:163)	KAY (SEQ ID NO:169)	KAYSL EY (SEQ ID NO:175)	LLIYK AYSLE (SEQ ID NO:181)	KAY (SEQ ID NO:187)
	<i>CDR3 VL</i>	QQFQKL PPFT (SEQ ID NO:158)	QQFQKL PPFT (SEQ ID NO:164)	FQKLP PF (SEQ ID NO:170)	QQFQK LPPFT (SEQ ID NO:176)	QQFQK LPPF (SEQ ID NO:182)	QQFQKLPPF T (SEQ ID NO:188)
Последовательность VH*: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFDVGISWVRQAPGQGLEWMGWIAP YSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPPFG YGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:189)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASESISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSLEY GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQFQKLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:190)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 19b Последовательности CDR антитела 25A5-T

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR 1 VH</i>	GYTFDAYGIS (SEQ ID NO:884)	AYGIS (SEQ ID NO:890)	GYTFDAY (SEQ ID NO:896)	GYTFDAYGIS (SEQ ID NO:902)	DAYGIS (SEQ ID NO:908)	GYTFDAYG (SEQ ID NO:914)
	<i>CDR 2 VH</i>	WIAPYS GNTNYA	WIAPY SGNTN	PYSG (SEQ ID NO:902)	WIAPYS GNTN	WMGWI APYSG	IAPYSGNT (SEQ ID NO:914)

		QKLQG (SEQ ID NO:885)	YAQKL QG (SEQ ID NO:891)	NO:897)	(SEQ ID NO:903)	NTN (SEQ ID NO:909)	NO:915)
	<i>CDR 3 VH</i>	DAGTYS PFGYGM DV (SEQ ID NO:886)	DAGTY SPFGY GMDV (SEQ ID NO:892)	AGTYSP FGYGM D (SEQ ID NO:898)	DAGTY SPFGYG MDV (SEQ ID NO:904)	ARDAG TYSFG YGMD (SEQ ID NO:910)	ARDAGTYSF GTGMDV (SEQ ID NO:916)
Посл. CDR VL	<i>CDR 1 VL</i>	RASESIS NWL (SEQ ID NO:887)	RASESI SNWL (SEQ ID NO:893)	SESI W (SEQ ID NO:899)	RASESI SNWL (SEQ ID NO:905)	SNWL WY (SEQ ID NO:911)	ESISN (SEQ ID NO:917)
	<i>CDR 2 VL</i>	KAYSLE Y (SEQ ID NO:888)	KAYSL EY (SEQ ID NO:894)	KAY (SEQ ID NO:900)	KAYSLE Y (SEQ ID NO:906)	LLIYKA YSLE (SEQ ID NO:912)	KAY (SEQ ID NO:918)
	<i>CDR 3 VL</i>	QQFQKL PPFT (SEQ ID NO:889)	QQFQK LPPFT (SEQ ID NO:895)	FQKLPP F (SEQ ID NO:901)	QQFQK LPPFT (SEQ ID NO:907)	QQFQK LPPF (SEQ ID NO:913)	QQFQKLPPFT (SEQ ID NO:919)
Последовательность VH*: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDAYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYS GNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSFGYG MDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:836)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSLEYG VPSRFGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQFQKLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:837)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 20 Последовательности CDR антитела 25G

		Иллюстр	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
		активная					
Посл. CDR VH	CDR 1 VH	GYTFRS YGIS (SEQ ID NO:191)	SYGIS (SEQ ID NO:197)	GYTFR SY (SEQ ID NO:203)	GYTFRS YGIS (SEQ ID NO:209)	RSYGIS (SEQ ID NO:215)	GYTFRSY G (SEQ ID NO:221)
	CDR 2 VH	WVAPYN GNTNYA QKLQG (SEQ ID NO:192)	WVAPY NGNTN YAQKL QG (SEQ ID NO:198)	PYNG (SEQ ID NO:204)	WVAPYN GNTN (SEQ ID NO:210)	WMGWVA PYNGNTN (SEQ ID NO:216)	VAPYNGN T (SEQ ID NO:222)
	CDR 3 VH	DAGTYS PYGYGM DV (SEQ ID NO:193)	DAGTY SPYGY GMDV (SEQ ID NO:199)	AGTYS PYGYG MD (SEQ ID NO:205)	DAGTYS PYGYGM DV (SEQ ID NO:211)	ARDAGTY SPYGYGM D (SEQ ID NO:217)	ARDAGTY SPYGYGM DV (SEQ ID NO:223)
Посл. CDR VL	CDR 1 VL	RASQSI SWLA (SEQ ID NO:194)	RASQSI SSWLA (SEQ ID NO:200)	SQSISS W (SEQ ID NO:206)	RASQSI SWLA (SEQ ID NO:212)	SSWLAW Y (SEQ ID NO:218)	QSISSW (SEQ ID NO:224)
	CDR 2 VL	KASSLES (SEQ ID NO:195)	KASSLE S (SEQ ID NO:201)	KAS (SEQ ID NO:207)	KASSLES (SEQ ID NO:213)	LLIYKASS LE (SEQ ID NO:219)	KAS (SEQ ID NO:225)
	CDR 3 VL	QQFQSL PPFT (SEQ ID NO:196)	QQFQS LPPFT (SEQ ID NO:202)	FQSLPP F (SEQ ID NO:208)	QQFQSL PPFT (SEQ ID NO:214)	QQFQSLPP F (SEQ ID NO:220)	QQFQSLPP FT (SEQ ID NO:226)
Последовательность VH*: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMGWVAPY NGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPTYGYG MDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:227)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLES							

PSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:228)

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 21 Последовательности CDR антитела 25G1

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR 1 VH</i>	GYTFRS YGIS (SEQ ID NO:229)	SYGIS (SEQ ID NO:235)	GYTFRSY (SEQ ID NO:241)	GYTFRS YGIS (SEQ ID NO:247)	RSYGIS (SEQ ID NO:253)	GYTFRSY G (SEQ ID NO:259)
	<i>CDR 2 VH</i>	WVAPYS GNTNYA QKLQG (SEQ ID NO:230)	WVAPYS GNTNYA QKLQG (SEQ ID NO:236)	PYSG (SEQ ID NO:242)	WVAPY SGNT N (SEQ ID NO:248)	WMGW VAPYS GNTN (SEQ ID NO:254)	VAPYSG NT (SEQ ID NO:260)
	<i>CDR 3 VH</i>	DAGTYS PYGYGM DV (SEQ ID NO:231)	DAGTYS PYGYGM DV (SEQ ID NO:237)	AGTYSPY GYGMD (SEQ ID NO:243)	DAGTYS PYGYG MDV (SEQ ID NO:249)	ARDAG TYSPYG YGMD (SEQ ID NO:255)	ARDAGT YSPYGY GMDV (SEQ ID NO:261)
Посл. CDR VL	<i>CDR 1 VL</i>	RASHSID SWLA (SEQ ID NO:232)	RASHSID SWLA (SEQ ID NO:238)	SHSIDSW (SEQ ID NO:244)	RASHSI DSWLA (SEQ ID NO:250)	DSWLA WY (SEQ ID NO:256)	HSIDSW (SEQ ID NO:262)
	<i>CDR 2 VL</i>	KASYLES (SEQ ID NO:233)	KASYLES (SEQ ID NO:239)	KAS (SEQ ID NO:245)	KASYLES (SEQ ID NO:251)	LLIY KASYLES (SEQ ID NO:257)	KAS (SEQ ID NO:263)
	<i>CDR 3 VL</i>	QLFQSLP PFT (SEQ ID NO:234)	QLFQSLP PFT (SEQ ID NO:240)	FQSLPPF (SEQ ID NO:246)	QLFQSL PPFT (SEQ ID NO:252)	QLFQSL PPF (SEQ ID NO:258)	QLFQSLP PFT (SEQ ID NO:264)

Последовательность VH*:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMGWVAPY
SGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSYGY
GMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:265)

Последовательность VL*:

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASHSIDSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASYLES
GVPSTRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID
NO:266)

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 22 Последовательности CDR антитела 25G9

		Иллюстра тивная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR 1 VH</i>	GYTFRSY GIS (SEQ ID NO:267)	SYGIS (SEQ ID NO:273)	GYTFRSY (SEQ ID NO:279)	GYTFRS YGIS (SEQ ID NO:285)	RSYGIS (SEQ ID NO:291)	GYTFR SYG (SEQ ID NO:297)
	<i>CDR 2 VH</i>	WVAPYS GNT NYAQKL QG (SEQ ID NO:268)	WVAPYS GNTNYA QKLQG (SEQ ID NO:274)	PYSG (SEQ ID NO:280)	WVAPY SGNTN (SEQ ID NO:286)	WMGW VAPYS GNTN (SEQ ID NO:292)	VAPYS GNT (SEQ ID NO:298)
	<i>CDR 3 VH</i>	DAGTYSY GYG GMDV (SEQ ID NO:269)	DAGTYS PYGYGM DV (SEQ ID NO:275)	AGTYSY GYGMD (SEQ ID NO:281)	DAGTY SPYGY GMDV (SEQ ID NO:287)	ARDAG TYSYGY YGMD (SEQ ID NO:293)	ARDAG TYSY GYGMD V (SEQ ID NO:299)
Посл. CDR VL	<i>CDR 1 VL</i>	QASQSID SWLA (SEQ ID NO:270)	QASQSID SWLA (SEQ ID NO:276)	SQSIDSW (SEQ ID NO:282)	QASQSI DSWLA (SEQ ID NO:288)	DSWLA WY (SEQ ID NO:294)	QSIDS W (SEQ ID NO:300)

	<i>CDR 2 VL</i>	SASYLES (SEQ ID NO:271)	SASYLES (SEQ ID NO:277)	SAS (SEQ ID NO:283)	SASYLE S (SEQ ID NO:289)	LLIYSA SYLE (SEQ ID NO:295)	SAS (SEQ ID NO:301)
	<i>CDR 3 VL</i>	QRFQSLP PFT (SEQ ID NO:272)	QRFQSL PPFT (SEQ ID NO:278)	FQSLPPF (SEQ ID NO:284)	QRFQSL PPFT (SEQ ID NO:290)	QRFQSL PPF (SEQ ID NO:296)	QRFQS LPPFT (SEQ ID NO:302)
Последовательность VH*: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMGWVAP YSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPIYG YGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:303)							
Последовательность VL*: DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIDSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSASYLES GVPSRFGSGSGTEFTLTISSLQPDFFATYYCQRFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:304)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 23 Последовательности CDR антитела 29D

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR1 VH</i>	GFTFHSR GMH (SEQ ID NO:305)	SRGMH (SEQ ID NO:311)	GFTFHSR (SEQ ID NO:317)	GFTFHSR GMH (SEQ ID NO:323)	HSRGMH (SEQ ID NO:329)	GFTFHSR G (SEQ ID NO:335)
	<i>CDR2 VH</i>	VITYDGI NKYYAD	VITYDGI NKYYAD	YDGI (SEQ ID	VITYDGI NKY	WVAVIT YDGINK	ITYDGIN K

		SVEG (SEQ ID NO:306)	SVEG (SEQ ID NO:312)	NO:318)	(SEQ ID NO:324)	Y (SEQ ID NO:330)	(SEQ ID NO:336)
	<i>CDR3</i> <i>VH</i>	DGVYYG VYDY (SEQ ID NO:307)	DGVYYG VYDY (SEQ ID NO:313)	GVYYGV YD (SEQ ID NO:319)	DGVYYG VYDY (SEQ ID NO:325)	ARDGVY YGVYD (SEQ ID NO:331)	ARDGVY YGVYDY (SEQ ID NO:337)
Посл. CDR VL	<i>CDR1</i> <i>VL</i>	KSSQSV LFSSNN KNYLA (SEQ ID NO:308)	KSSQSV LFSSNN KNYLA (SEQ ID NO:314)	SQSVLFS SNNKNY (SEQ ID NO:320)	KSSQSV LFSSNN KNYLA (SEQ ID NO:326)	LFSSNN KNYLA WY (SEQ ID NO:332)	QSVLFSS NNKNY (SEQ ID NO:338)
	<i>CDR2</i> <i>VL</i>	WASTRE S (SEQ ID NO:309)	WASTRE S (SEQ ID NO:315)	WAS (SEQ ID NO:321)	WASTRE S (SEQ ID NO:327)	LLIYWA STRE (SEQ ID NO:333)	WAS (SEQ ID NO:339)
	<i>CDR3</i> <i>VL</i>	QQFHSY PLT (SEQ ID NO:310)	QQFHSY PLT (SEQ ID NO:316)	FHSYPL (SEQ ID NO:322)	QQFHSY PLT (SEQ ID NO:328)	QQFHSY PL (SEQ ID NO:334)	QQFHSY PLT (SEQ ID NO:340)
Последовательность VH*: QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFHSRGMHWVRQAPGKGLEWVAVITYDG INKYYADSVVEGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGVYYGVYDYG QGTLVTVSS (SEQ ID NO:341)							
Последовательность VL*: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWA STRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQFHSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:342)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 24 Последовательности CDR антитела 29E

		Иллюстр ативная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VH</i>	GFTFRSY GMH (SEQ ID NO:343)	SYGMH (SEQ ID NO:349)	GFTFRSY (SEQ ID NO:355)	GFTFRSY GMH (SEQ ID NO:361)	RSYGMH (SEQ ID NO:367)	GFTFRSY G (SEQ ID NO:373)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VH</i>	VITYDGI NKYYAD SVEG (SEQ ID NO:344)	VITYDGI NKYYAD SVEG (SEQ ID NO:350)	YDGI (SEQ ID NO:356)	VITYDGI NKY (SEQ ID NO:362)	WVAVIT YDGINK Y (SEQ ID NO:368)	ITYDGIN K (SEQ ID NO:374)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VH</i>	DGVYYG VYDY (SEQ ID NO:345)	DGVYYG VYDY (SEQ ID NO:351)	GVYYGV YD (SEQ ID NO:357)	DGVYYG VYDY (SEQ ID NO:363)	ARDGVY YGVYD (SEQ ID NO:369)	ARDGVY YGVYDY (SEQ ID NO:375)
Посл. CDR VL	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VL</i>	KSSQSV LFSSNN KNYLA (SEQ ID NO:346)	KSSQSV LFSSNN KNYLA (SEQ ID NO:352)	SQSVLFS SNNKNY (SEQ ID NO:358)	KSSQSV LFSSNN KNYLA (SEQ ID NO:364)	LFSSNN KNYLA WY (SEQ ID NO:370)	QSVLFSS NNKNY (SEQ ID NO:376)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VL</i>	WASTRE S (SEQ ID NO:347)	WASTRE S (SEQ ID NO:353)	WAS (SEQ ID NO:359)	WASTRE S (SEQ ID NO:365)	LLIYWA STRE (SEQ ID NO:371)	WAS (SEQ ID NO:377)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VL</i>	QQFHSY PLT (SEQ ID NO:348)	QQFHSY PLT (SEQ ID NO:354)	FHSYPL (SEQ ID NO:360)	QQFHSY PLT (SEQ ID NO:366)	QQFHSY PL (SEQ ID NO:372)	QQFHSY PLT (SEQ ID NO:378)
Последовательность VH*: QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GFTFRSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVITYD GINKYYADSV EGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGVYYGVYDY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:379)							
Последовательность VL*: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCK KSSQSVLFSSNNKNYLA WYQQKPGQP PKLLIYW ASTRESGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQFHSYPLT FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:380)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 25 Последовательности CDR антитела 39А

		Иллюстр ативная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR 1 VH</i>	GGTFSS NAIG (SEQ ID NO:381)	SNAIG (SEQ ID NO:387)	GGTFSS N (SEQ ID NO:393)	GGTFSS NAIG (SEQ ID NO:399)	SSNAIG (SEQ ID NO:405)	GGTFSS NA (SEQ ID NO:411)
	<i>CDR 2 VH</i>	SIPIIGF ANYAQK FQG (SEQ ID NO:382)	SIPIIGFA NYAQKFQ G (SEQ ID NO:388)	PIIG (SEQ ID NO:394)	SIPIIGF AN (SEQ ID NO:400)	WMGSIIP IIGFAN (SEQ ID NO:406)	IPIIGFA (SEQ ID NO:412)
	<i>CDR 3 VH</i>	DSGYYY GASSFG MDV (SEQ ID NO:383)	DSGYYYG ASSFGMD V (SEQ ID NO:389)	SGYYY GASSF GMD (SEQ ID NO:395)	DSGYY YGASS FGMDV (SEQ ID NO:401)	ARDSGY YYGASS FGMD (SEQ ID NO:407)	ARDSGY YYGASS FGMDV (SEQ ID NO:413)
Посл. CDR VL	<i>CDR 1 VL</i>	RASQSV SSNLA (SEQ ID NO:384)	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:390)	SQSVSS N (SEQ ID NO:396)	RASQS VSSNL A (SEQ ID NO:402)	SSNLAW Y (SEQ ID NO:408)	QSVSSN (SEQ ID NO:414)
	<i>CDR 2 VL</i>	GASTRA T (SEQ ID NO:385)	GASTRAT (SEQ ID NO:391)	GAS (SEQ ID NO:397)	GASTR AT (SEQ ID NO:403)	LLIYGAS TRA (SEQ ID NO:409)	GAS (SEQ ID NO:415)
	<i>CDR 3 VL</i>	EQYNNL PLT (SEQ ID NO:386)	EQYNNLP LT (SEQ ID NO:392)	YNNLP L (SEQ ID NO:398)	EQYNN LPLT (SEQ ID NO:404)	EQYNNL PL (SEQ ID NO:410)	EQYNNL PLT (SEQ ID NO:416)

Последовательность VH*:

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSNAIGWVRQAPGGGLEWMGSIPIIG
FANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARD**SGYYYYGASSFGM**
DVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:417)

Последовательность VL*:

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYG**ASTRATG**
 IPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCE**QYNNLPLTFGGG**TKVEIK (SEQ ID
 NO:418)

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по
 Kabat плюс Chothia

Таблица 26 Последовательности CDR антитела 43B

		Иллюстр ативная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR1 VH</i>	GGSISSG QYWS (SEQ ID NO:419)	SGQYW S (SEQ ID NO:425)	GGSISSG Q (SEQ ID NO:431)	GGSISSG QYWS (SEQ ID NO:437)	SSGQYW S (SEQ ID NO:443)	GGSISSG QY (SEQ ID NO:449)
	<i>CDR2 VH</i>	EIYYSGS TRYNPS LKS (SEQ ID NO:420)	EIYYSG STRYN PSLKS (SEQ ID NO:426)	YSG (SEQ ID NO:432)	EIYYSGS TR (SEQ ID NO:438)	WIGEIYY SGSTR (SEQ ID NO:444)	IYYSGST (SEQ ID NO:450)
	<i>CDR3 VH</i>	DAPYYY GGGYYY YMDV (SEQ ID NO:421)	DAPYY YGGGY YYYMD V (SEQ ID NO:427)	APYYYG GGYyyy MD (SEQ ID NO:433)	DAPYYY GGGYYY YMDV (SEQ ID NO:439)	ARDAPY YYGGGY YYYMD (SEQ ID NO:445)	ARDAPY YYGGGY YYYMD V (SEQ ID NO:451)
Посл. CDR VL	<i>CDR1 VL</i>	RASQSV SSSYLA (SEQ ID NO:422)	RASQS VSSSYL A (SEQ ID NO:428)	SQSVSSS Y (SEQ ID NO:434)	RASQSV SSSYLA (SEQ ID NO:440)	SSSYLA WY (SEQ ID NO:446)	QSVSSSY (SEQ ID NO:452)
	<i>CDR2</i>	GASSRA	GASSR	GAS	GASSRA	LLIYGAS	GAS

	<i>VL</i>	T (SEQ ID NO:423)	AT (SEQ ID NO:429)	(SEQ ID NO:435)	T (SEQ ID NO:441)	SRA (SEQ ID NO:447)	(SEQ ID NO:453)
	<i>CDR3</i> <i>VL</i>	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:424)	QQVGV VPYT (SEQ ID NO:430)	VGVPY (SEQ ID NO:436)	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:442)	QQVGVV PY (SEQ ID NO:448)	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:454)
Последовательность VH*: QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIYYSGST RYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDAPYYYGGGYYYMDV WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:455)							
Последовательность VL*: EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQVGVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:456)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 27 Последовательности CDR антитела 43B1

		Иллюстр ативная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CD</i> <i>R1</i> <i>VH</i>	GGSISSG QYWS (SEQ ID NO:457)	SGQYWS (SEQ ID NO:463)	GGSISS GQ (SEQ ID NO:469)	GGSISSG QYWS (SEQ ID NO:475)	SSGQYW S (SEQ ID NO:481)	GGSISSGQ Y (SEQ ID NO:487)
	<i>CD</i> <i>R2</i> <i>VH</i>	EIYYSGS TRYNPS LKS (SEQ ID NO:458)	EIYYSGS TRYNPS LKS (SEQ ID NO:464)	YSG (SEQ ID NO:470)	EIYYSGS TR (SEQ ID NO:476)	WIGEIYY SGSTR (SEQ ID NO:482)	IYYSGST (SEQ ID NO:488)
	<i>CD</i> <i>R3</i> <i>VH</i>	DAPYYY GGGYYY YMDV (SEQ ID	DAPYYY GGGYYY YMDV (SEQ ID	APYYY GGGY YYMD (SEQ ID	DAPYYY GGGYYY YMDV (SEQ ID	ARDAPY YYGGGY YYYMD (SEQ ID	ARDAPYY YGGGYYY YMDV (SEQ ID

		NO:459)	NO:465)	NO:471)	NO:477)	NO:483)	NO:489)
Посл. CDR VL	<i>CD</i>	RASESV	RASESV	SESVDS	RASESV	DSSYLA	ESVDSSY
	<i>RI</i>	DSSYLA	DSSYLA	SY	DSSYLA	WY	(SEQ ID
	<i>VL</i>	(SEQ ID NO:460)	(SEQ ID NO:466)	(SEQ ID NO:472)	(SEQ ID NO:478)	(SEQ ID NO:484)	NO:490)
	<i>CD</i>	GASTRQ	GASTRQ	GAS	GASTRQ	LLIYGAS	GAS
	<i>R2</i>	T	T	(SEQ ID NO:473)	T	TRQ	(SEQ ID NO:491)
	<i>VL</i>	(SEQ ID NO:461)	(SEQ ID NO:467)		(SEQ ID NO:479)	(SEQ ID NO:485)	
	<i>CD</i>	QQAGVV	QQAGVV	AGVVP	QQAGVV	QQAGVV	QQAGVVP
	<i>R3</i>	PYT	PYT	Y	PYT	PY	YT
	<i>VL</i>	(SEQ ID NO:462)	(SEQ ID NO:468)	(SEQ ID NO:474)	(SEQ ID NO:480)	(SEQ ID NO:486)	(SEQ ID NO:492)
Последовательность VH*: QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIIYSGST RYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDAPYYYGGGYYYYMDV WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:493)							
Последовательность VL*: EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASEVDSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRQTGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQAGVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:494)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 28 Последовательности CDR антитела 43B7

		Иллюстр ативная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR 1 VH</i>	GGSISSG QYWS (SEQ ID NO:495)	SGQYWS (SEQ ID NO:501)	GGSISSG Q (SEQ ID NO:507)	GGSISSG QYWS (SEQ ID NO:513)	SSGQYW S (SEQ ID NO:519)	GGSISSG QY (SEQ ID NO:525)
	<i>CDR 2 VH</i>	EIYYSGS TRYNPS	EIYYSGS TRYNPS	YSG (SEQ ID	EIYYSGS TR	WIGEIIY SGSTR	IYYSGST (SEQ ID

		LKS (SEQ ID NO:496)	LKS (SEQ ID NO:502)	NO:508)	(SEQ ID NO:514)	(SEQ ID NO:520)	NO:526)
	<i>CDR 3 VH</i>	DAPYYY GGGYYY YMDV (SEQ ID NO:497)	DAPYYY GGGYYY YMDV (SEQ ID NO:503)	APYYYG GGYyyy MD (SEQ ID NO:509)	DAPYYY GGGYYY YMDV (SEQ ID NO:515)	ARDAPY YYGGGY YYMD (SEQ ID NO:521)	ARDAPY YYGGGY YYMD V (SEQ ID NO:527)
Посл. CDR VL	<i>CDR 1 VL</i>	RASESV DSSYLA (SEQ ID NO:498)	RASESV DSSYLA (SEQ ID NO:504)	SESVDSS Y (SEQ ID NO:510)	RASESV DSSYLA (SEQ ID NO:516)	DSSYLA WY (SEQ ID NO:522)	ESVDSS Y (SEQ ID NO:528)
	<i>CDR 2 VL</i>	GADSRA T (SEQ ID NO:499)	GADSRA T (SEQ ID NO:505)	GAD (SEQ ID NO:511)	GADSRA T (SEQ ID NO:517)	LLIYGA DSRA (SEQ ID NO:523)	GAD (SEQ ID NO:529)
	<i>CDR 3 VL</i>	QQDGVV PYT (SEQ ID NO:500)	QQDGVV PYT (SEQ ID NO:506)	DGVVPY (SEQ ID NO:512)	QQDGVV PYT (SEQ ID NO:518)	QQDGVV PY (SEQ ID NO:524)	QQDGVV PYT (SEQ ID NO:530)
Последовательность VH*: QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIYYSGS TRYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD APYYYGGGYYYYM DVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:531)							
Последовательность VL*: EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASEVDSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGADSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQDGVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:532)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 29 Последовательности CDR антитела 43D

		Иллюстр	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
		активная*					
Посл. CDR VH	CDR 1 VH	GGSLSG YYWS (SEQ ID NO:533)	GYYSWS (SEQ ID NO:539)	GGSLSGY (SEQ ID NO:545)	GGSLSG YYWS (SEQ ID NO:551)	SGYYWS (SEQ ID NO:557)	GGSLSG YY (SEQ ID NO:563)
	CDR 2 VH	EIGASGS TRYNPS LKS (SEQ ID NO:534)	EIGASG STRYN PSLKS (SEQ ID NO:540)	ASG (SEQ ID NO:546)	EIGASGS TR (SEQ ID NO:552)	WIGEIGA SGSTR (SEQ ID NO:558)	IGASGST (SEQ ID NO:564)
	CDR 3 VH	DTPYYY EGGYYY YMDV (SEQ ID NO:535)	DTPYY YEGGY YYYMD V (SEQ ID NO:541)	TPYYYEGG YYYYMD (SEQ ID NO:547)	DTPYYY EGGYYY YMDV (SEQ ID NO:553)	ARDTPY YYEGGY YYYMD (SEQ ID NO:559)	ARDTPY YYEGGY YYYMD V (SEQ ID NO:565)
Посл. CDR VL	CDR 1 VL	RASQSV SSSYL A (SEQ ID NO:536)	RASQS VSSSYL A (SEQ ID NO:542)	SQSVSSSY (SEQ ID NO:548)	RASQSV SSSYL (SEQ ID NO:554)	SSSYLA WY (SEQ ID NO:560)	QSVSSSY (SEQ ID NO:566)
	CDR 2 VL	GASSRA T (SEQ ID NO:537)	GASSR AT (SEQ ID NO:543)	GAS (SEQ ID NO:549)	GASSRA T (SEQ ID NO:555)	LLIYGAS SRA (SEQ ID NO:561)	GAS (SEQ ID NO:567)
	CDR 3 VL	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:538)	QQVGV VPYT (SEQ ID NO:544)	VGVPY (SEQ ID NO:550)	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:556)	QQVGVV PY (SEQ ID NO:562)	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:568)
Последовательность VH*: QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSLSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIGASGS TRYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTPYYYEGGYYYYMD VWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:569)							
Последовательность VL*:							

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI
PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQVGVVPTFGGGTKVEIK (SEQ ID
NO:570)

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 30 Последовательности CDR антитела 43D7

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR 1 VH</i>	GGSLSG YYWS (SEQ ID NO:571)	GYYSWS (SEQ ID NO:577)	GGSLSG Y (SEQ ID NO:583)	GGSLSG YYWS (SEQ ID NO:589)	SGYYWS (SEQ ID NO:595)	GGSLSG YY (SEQ ID NO:601)
	<i>CDR 2 VH</i>	EIGASGS TRYNPS LKS (SEQ ID NO:572)	EIGASGS TRYNPS LKS (SEQ ID NO:578)	ASG (SEQ ID NO:584)	EIGASGS TR (SEQ ID NO:590)	WIGEIGA SGSTR (SEQ ID NO:596)	IGASGST (SEQ ID NO:602)
	<i>CDR 3 VH</i>	DTPYYY EGGYYY YMDV (SEQ ID NO:573)	DTPYYY EGGYYY YMDV (SEQ ID NO:579)	TPYYYE GGYYY MD (SEQ ID NO:585)	DTPYYY EGGYYY YMDV (SEQ ID NO:591)	ARDTPY YYEGGY YYYMD (SEQ ID NO:597)	ARDTPY YYEGGY YYYMD V (SEQ ID NO:603)
Посл. CDR VL	<i>CDR 1 VL</i>	RASDSV DSSYLA (SEQ ID NO:574)	RASDSV DSSYLA (SEQ ID NO:580)	SDSVDSS Y (SEQ ID NO:586)	RASDSV DSSYLA (SEQ ID NO:592)	DSSYLA WY (SEQ ID NO:598)	DSVDSS Y (SEQ ID NO:604)
	<i>CDR 2 VL</i>	GAFSRA N (SEQ ID NO:575)	GAFSRA N (SEQ ID NO:581)	GAF (SEQ ID NO:587)	GAFSRA N (SEQ ID NO:593)	LLIYGAF SRA (SEQ ID NO:599)	GAF (SEQ ID NO:605)
	<i>CDR 3 VL</i>	QQAGVV PYT	QQAGVV PYT	AGVVPY (SEQ ID NO:587)	QQAGVV PYT	QQAGVV PY	QQAGVV PYT

		(SEQ ID NO:576)	(SEQ ID NO:582)	NO:588)	(SEQ ID NO:594)	(SEQ ID NO:600)	(SEQ ID NO:606)
Последовательность VH*: QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSLSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIGASGS TRYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTPYYYEGGYYYYMD VWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:607)							
Последовательность VL*: EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASDSDSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRANGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQAGVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:608)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 31 Последовательности CDR антитела 43D8

		Иллюстра тивная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR1 VH</i>	GGSLSGY YWS (SEQ ID NO:609)	GYYSWS (SEQ ID NO:615)	GGSLSG Y (SEQ ID NO:621)	GGSLSG YYWS (SEQ ID NO:627)	SGYYWS (SEQ ID NO:633)	GGSLSG YY (SEQ ID NO:639)
	<i>CDR2 VH</i>	EIGASGST RYNPSLK S (SEQ ID NO:610)	EIGASG STRYN PSLKS (SEQ ID NO:616)	ASG (SEQ ID NO:622)	EIGASGS TR (SEQ ID NO:628)	WIGEIGA SGSTR (SEQ ID NO:634)	IGASGST (SEQ ID NO:640)
	<i>CDR3 VH</i>	DTPYYE GGY MDV (SEQ ID NO:611)	DTPYY YEGGY YYYMD V (SEQ ID NO:617)	TPYYE GGY MD (SEQ ID NO:623)	DTPYY EGGY YMDV (SEQ ID NO:629)	ARDTPY YYEGGY YYYMD (SEQ ID NO:635)	ARDTPY YYEGGY YYYMD V (SEQ ID NO:641)
Посл. CDR VL	<i>CDR1 VL</i>	RASQSVS SSFLA (SEQ ID NO:608)	RASQS VSSSFL A	SQSVSSS F (SEQ ID NO:608)	RASQSV SSSFLA (SEQ ID NO:608)	SSSFLA WY (SEQ ID NO:608)	QSVSSSF (SEQ ID NO:642)

		NO:612)	(SEQ ID NO:618)	NO:624)	NO:630)	NO:636)	
	<i>CDR2</i> <i>VL</i>	GAYSRAT (SEQ ID NO:613)	GAYSR AT (SEQ ID NO:619)	GAY (SEQ ID NO:625)	GAYSRA T (SEQ ID NO:631)	LLIYGA YSRA (SEQ ID NO:637)	GAY (SEQ ID NO:643)
	<i>CDR3</i> <i>VL</i>	QQAGVVP YT (SEQ ID NO:614)	QQAGV VPYT (SEQ ID NO:620)	AGVVPY (SEQ ID NO:626)	QQAGVV PYT (SEQ ID NO:632)	QQAGVV PY (SEQ ID NO:638)	QQAGVV PYT (SEQ ID NO:644)
Последовательность VH*: QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSLSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIGASGS TRYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTPYYYEGGYYYMD VWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:645)							
Последовательность VL*: EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGAYSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQAGVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:646)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 32 Последовательности CDR антитела 43E

		Иллюстративная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CDR1</i> <i>VH</i>	GGSISSG QYWS (SEQ ID NO:647)	SGQYWS (SEQ ID NO:653)	GGSISS GQ (SEQ ID NO:659)	GGSISSG QYWS (SEQ ID NO:665)	SSGQYW S (SEQ ID NO:671)	GGSISSG QY (SEQ ID NO:677)
	<i>CDR2</i> <i>VH</i>	EIYYSGS TRYNPS	EIYYSGS TRYNPS	YSG (SEQ ID	EIYYSGS TR	WIGEIIY SGSTR	IYYSGST (SEQ ID

		LKS (SEQ ID NO:648)	LKS (SEQ ID NO:654)	NO:660)	(SEQ ID NO:666)	(SEQ ID NO:672)	NO:678)
	<i>CDR3</i> <i>VH</i>	DTPYYY DGGYYY YMDV (SEQ ID NO:649)	DTPYYY DGGYYY YMDV (SEQ ID NO:655)	TPYYY DGGYY YYMD (SEQ ID NO:661)	DTPYYY DGGYYY YMDV (SEQ ID NO:667)	ARDTPY YYDGGY YYYMD (SEQ ID NO:673)	ARDTPY YYDGGY YYYMD V (SEQ ID NO:679)
Посл. CDR VL	<i>CDR1</i> <i>VL</i>	RASQSV SSSYLA (SEQ ID NO:650)	RASQSV SSSYLA (SEQ ID NO:656)	SQSVSS SY (SEQ ID NO:662)	RASQSV SSSYLA (SEQ ID NO:668)	SSSYLA WY (SEQ ID NO:674)	QSVSSSY (SEQ ID NO:680)
	<i>CDR2</i> <i>VL</i>	GASSRA T (SEQ ID NO:651)	GASSRA T (SEQ ID NO:657)	GAS (SEQ ID NO:663)	GASSRA T (SEQ ID NO:669)	LLIYGAS SRA (SEQ ID NO:675)	GAS (SEQ ID NO:681)
	<i>CDR3</i> <i>VL</i>	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:652)	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:658)	VGVVP Y (SEQ ID NO:664)	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:670)	QQVGVV PY (SEQ ID NO:676)	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:682)
Последовательность VH*: QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIIYSGST RYNPSLKSRTISVDTSKDQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTPYYDGGYYYMDV WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:683)							
Последовательность VL*: EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQVGVVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:684)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

		Иллюстр	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
		ативная*					
Посл. CDR VH	CDR1 VH	GGSISSG QYWS (SEQ ID NO:685)	SGQYWS (SEQ ID NO:691)	GGSISSG Q (SEQ ID NO:697)	GGSISSG QYWS (SEQ ID NO:703)	SSGQYW S (SEQ ID NO:709)	GGSISSG QY (SEQ ID NO:715)
	CDR2 VH	EIYYSGS TRYNPS LKS (SEQ ID NO:686)	EIYYSGS TRYNPS LKS (SEQ ID NO:692)	YSG (SEQ ID NO:698)	EIYYSGS TR (SEQ ID NO:704)	WIGEIYY SGSTR (SEQ ID NO:710)	IYYSGST (SEQ ID NO:716)
	CDR3 VH	DTPYYY DGGYYY YMDV (SEQ ID NO:687)	DTPYYY DGGYYY YMDV (SEQ ID NO:693)	TPYYYD GGYYYY MD (SEQ ID NO:699)	DTPYYY DGGYYY YMDV (SEQ ID NO:705)	ARDTPY YYDGGY YYYMD (SEQ ID NO:711)	ARDTPY YYDGGY YYYMD V (SEQ ID NO:717)
Посл. CDR VL	CDR1 VL	RASQSV SSSYLA (SEQ ID NO:688)	RASQSV SSSYLA (SEQ ID NO:694)	SQSVSSS Y (SEQ ID NO:700)	RASQSV SSSYLA (SEQ ID NO:706)	SSSYLA WY (SEQ ID NO:712)	QSVSSSY (SEQ ID NO:718)
	CDR2 VL	GASSRA T (SEQ ID NO:689)	GASSRA T (SEQ ID NO:695)	GAS (SEQ ID NO:701)	GASSRA T (SEQ ID NO:707)	LLIYGAS SRA (SEQ ID NO:713)	GAS (SEQ ID NO:719)
	CDR3 VL	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:690)	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:696)	VGVPY (SEQ ID NO:702)	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:708)	QQVGVV PY (SEQ ID NO:714)	QQVGVV PYT (SEQ ID NO:720)
Последовательность VH*: QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGQYWSWIRQHPGKGLEWIGEIYYSGST RYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTPYYYDGGYYYYYMDV WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:721)							
Последовательность VL*: EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI							

PDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYC QQVG VVPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:722)

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat и Chothia

Таблица 34 Последовательности CDR антитела 54E

		Иллюстр ативная*	Kabat	Chothia	AbM	Контакт	IMGT
Посл. CDR VH	<i>CD</i>	GYTFAN	NYVMH	GYTFAN	GYTFAN	ANYVM	GYTFANY
	<i>RI</i>	YVMH	(SEQ ID	Y	YVMH	H	Y
	<i>VH</i>	(SEQ ID	NO:729)	(SEQ ID	(SEQ ID	(SEQ ID	(SEQ ID
		NO:723)		NO:735)	NO:741)	NO:747)	NO:753)
	<i>CD</i>	IINPSGGI	IINPSGGI	PSGG	IINPSGGI	WMGIIN	INPSGGIT
	<i>R2</i>	TVYAQK	TVYAQK	(SEQ ID	TV	PSGGITV	(SEQ ID
	<i>VH</i>	FQG	FQG	NO:736)	(SEQ ID	(SEQ ID	NO:754)
		(SEQ ID	(SEQ ID		NO:742)	NO:748)	
		NO:724)	NO:730)				
Посл. CDR VL	<i>CD</i>	GGSKVA	GGSKVA	GSKVAA	GGSKVA	ARGGSK	ARGGSKV
	<i>R3</i>	ALAFDI	ALAFDI	LAFD	ALAFDI	VAALAF	AALAFDI
	<i>VH</i>	(SEQ ID	(SEQ ID	(SEQ ID	(SEQ ID	D	(SEQ ID
		NO:725)	NO:731)	NO:737)	NO:743)	(SEQ ID	NO:755)
						NO:749)	
	<i>CD</i>	QASQDIS	QASQDIS	SQDISNS	QASQDIS	SNSLNW	QDISNS
	<i>RI</i>	NSLN	NSLN	(SEQ ID	NSLN	Y	(SEQ ID
	<i>VL</i>	(SEQ ID	(SEQ ID	NO:738)	(SEQ ID	(SEQ ID	NO:756)
		NO:726)	NO:732)		NO:744)	NO:750)	
Посл. CDR VL	<i>CD</i>	DASNLE	DASNLE	DAS	DASNLE	LLIYDAS	DAS
	<i>R2</i>	T	T	(SEQ ID	T	NLE	(SEQ ID
	<i>VL</i>	(SEQ ID	(SEQ ID	NO:739)	(SEQ ID	(SEQ ID	NO:757)
		NO:727)	NO:733)		NO:745)	NO:751)	
	<i>CD</i>	QQYNFH	QQYNFH	YNFHPL	QQYNFH	QQYNFH	QQYNFHPL
	<i>R3</i>	PLT	PLT	(SEQ ID	PLT	PL	T
	<i>VL</i>	(SEQ ID	(SEQ ID	NO:740)	(SEQ ID	(SEQ ID	(SEQ ID
		NO:728)	NO:734)		NO:746)	NO:752)	NO:758)
Последовательность VH*:							
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFANYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSG GITVYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGGSKVAALAFDIW GQGTMTVSS (SEQ ID NO:759)							
Последовательность VL*:							
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNSLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGV PSRFGSGRSGTDFTFTISLQPEDATYYCQQYNFHPPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:760)							

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 35 Консенсусные последовательности CDR

Группа антител		1	25	29	39	43	54
Посл. CDR VH*	CDR1 VH	GFTFSx [D/S]YA Mx[A/G] (SEQ ID NO:773)	GYTFx[D /R]x[S/V] YGIS (SEQ ID NO:779)	GFTFx[H/R]Sx[R/Y]GM H (SEQ ID NO:785)	GGTFS SNAIG (SEQ ID NO:791)	GGsx[I/L] SSGx[Q/Y] YWS (SEQ ID NO:797)	GYTFAN YYMH (SEQ ID NO:803)
	CDR2 VH	x[A/T]IS GSGGL TYYAD SVKG (SEQ ID NO:774)	Wx[I/V]A PYx[S/N] GNTNYA QKLQG (SEQ ID NO:780)	VITYD GINKY YADSV EG (SEQ ID NO:786)	SIPIIG FANYA QKFQG (SEQ ID NO:792)	Elx[Y/G]x[Y/A]SGST RYNPSLK S (SEQ ID NO:798)	IINPSGGI TVYAQK FQG (SEQ ID NO:804)
	CDR3 VH	APYGY YMDV (SEQ ID NO:775)	DAGTYS Px[F/Y]G YGMDV (SEQ ID NO:781)	DGVYY GVYDY (SEQ ID NO:787)	DSGYY YGASS FGMDV (SEQ ID NO:793)	Dx[T/A]PY YYx[E/G/D] JGGYYYY MDV (SEQ ID NO:799)	GGSKVA ALAFDI (SEQ ID NO:805)
Посл. CDR VL*	CDR1 VL	RASQSI SSWLA (SEQ ID NO:776)	x[R/Q]AS x[Q/E/H]S Ix[S/D/N] x[S/N]WL A (SEQ ID NO:782)	KSSQS VLFSSN NKNYL A (SEQ ID NO:788)	RASQS VSSNL A (SEQ ID NO:794)	RASx[Q/E/ D]SVx[S/D] JSSx[Y/F]L A (SEQ ID NO:800)	QASQDIS NSLN (SEQ ID NO:806)
	CDR2 VL	KASSLE S (SEQ ID NO:777)	x[K/S]Ax[S/Y]x[S/Y /N]LEx[S/ Y] (SEQ ID NO:783)	WASTR ES (SEQ ID NO:789)	GASTR AT (SEQ ID NO:795)	GAx[S/D/F /Y]x[S/T]R x[A/Q]x[T/ N] (SEQ ID NO:801)	DASNLET (SEQ ID NO:807)
	CDR3	QQYKS	Qx[Q/L/R	QQFHS	EQYNN	QQx[V/A/	QQYNFH

	VL	YIT (SEQ ID NO:778)	JFQx[S/K] LPPFT (SEQ ID NO:784)	YPLT (SEQ ID NO:790)	LPLT (SEQ ID NO:796)	DJGVVPY T (SEQ ID NO:802)	PLT (SEQ ID NO:808)

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 36 Последовательности TF человека, яванского макака и мыши

Вид	Человек (Homo sapiens)	Яванский макак (Macaca fascicularis)	Мышь (Mus musculus)
Полно- размерная последовательность [сигнальная последовательность подчеркнута]	<u>METPAWPRVPRPETA</u> <u>VARTLLLGWVFAQV</u> <u>AGASGTTNTVAAYNL</u> TWKSTNFKTILEWEP KPVNQVYTVQISTKS GDWWSKCFYTTDTEC DLTDEIVKDVKQTYL ARVFSYPAGNVESTG SAGEPLYENSPEFTPY LETNLGQPTIQSFEQV GTKVNVTVEDERTLV RRNNTFLSLRDVFGK DLIYTLYYWKSSSSG KKTAKTNTNEFLIDV DKGENYCFSVQAVIP SRTVNRKSTDSPVEC MGQEKGEFREIFYIIG AVVFVVILVILAIISL HKCRKAGVGQSWKE NSPLNVS (SEQ ID NO:809)	<u>METPAWPRVPRPETAV</u> <u>ARTLLLGWVFAQVAG</u> <u>ASGTTNTVAAYNLTW</u> KSTNFKTILEWEPKPIN QVYTVQISTKSGDWKS KCFYTADTECDLTDEI VKDVKQTYLARVFSYP AGHVESTGSTEEPPE NSPEFTPYLETNLGQPT IQSFEQVGTKVNVTVQ DEWTLVRRNDTFLSLR DVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNEFLI DVDKGENYCFSVQAVI PSRRTANRKSTDSPVEC MGHEKGESREIFYIIGA VVFVVILVILAIISLHK CKKARVGRSWKENSPL NVA (SEQ ID NO:813)	<u>MAILVRPRLAALAPT</u> <u>FLGCLLLQVTAGAGIP</u> EKAFNLTWISTDFKTI LEWQPKPTNYTYTVQ ISDRSRNWKNKCFSTT DTECDLTDEIVKDVT WAYEAKVLSVPRRNS VHGDGDQLVIHGEEP PFTNAPKFLPYRDTNL GQPVIQQFEQDGRKL NVVVKDSLTLVRKNG TFLTLRQVFGKDLGYI ITYRKGSSTGKKTNIT NTNEFSIDVEEGVSYC FFVQAMIFSRKTNQNS PGSSTVCTEQWKSFL GETLIIVGAVVLLATIF IILLSISLCKRRKNRAG QKGKNTPSRLA (SEQ ID NO:817)

Внеклеточный домен (ECD)	SGTTNTVAAYNLTW KSTNFKTILEWEPKPV NQVYTVQISTKSGDW KSKCFYTTDTECDLT DEIVKDVKQTYLARV FSYPAGNVESTGSAG EPLYENSPEFTPYLET NLGQPTIQSFQVGTK VNVTVEDERTLVRRN NTFLSLRDVFGKDLIY TLYYWKSSSSGKKTA KTNTNEFLIDVDKGE NYCFSVQAVIPSRTVN RKSTDSPVECMGQEK GEFRE (SEQ ID NO:810)	SGTTNTVAAYNLTWKS TNFKTILEWEPKPINQV YTVQISTKSGDWKSKC FYTADTECDLTDEIVK DVKQTYLARVFSYPAG HVESTGSTEEPYPYENSP EFTPYLETNLGQPTIQS FEQVGTKVNVTVQDE WTLVRRNDTFLSLRDV FGKDLIYTLYYWKSSS SGKKTAKTNTNEFLID VDKGENYCFSVQAVIP SRRTANRKSTDSPVEC MGHEKGESRE (SEQ ID NO:814)	AGIPEKAFNLTWISTD FKTILEWQPKPTNYTY TVQISDRSRNWKNKC FSTTDTECDLTDEIVK DVTWAYEAKVLSVPR RNSVHGDGDQLVIHG EPPFTNAPKFLPYRD TNLGQPVIQQFEQDG RKLNVVVKDSLTLVR KNGTFLTLRQVFGKD LGYIITYRKGSSTGKK TNITNTNEFSIDVEEG VSYCFFVQAMIFSRKT NQNSPGSSTVCTEQW KSFLGE (SEQ ID NO:818)
Последовательность белка TF ECD-His (TF-His)	SGTTNTVAAYNLTW KSTNFKTILEWEPKPV NQVYTVQISTKSGDW KSKCFYTTDTECDLT DEIVKDVKQTYLARV FSYPAGNVESTGSAG EPLYENSPEFTPYLET NLGQPTIQSFQVGTK VNVTVEDERTLVRRN NTFLSLRDVFGKDLIY TLYYWKSSSSGKKTA KTNTNEFLIDVDKGE NYCFSVQAVIPSRTVN RKSTDSPVECMGQEK GEFRETGHHHHHH (SEQ ID NO:811)	SGTTNTVAAYNLTWKS TNFKTILEWEPKPINQV YTVQISTKSGDWKSKC FYTADTECDLTDEIVK DVKQTYLARVFSYPAG HVESTGSTEEPYPYENSP EFTPYLETNLGQPTIQS FEQVGTKVNVTVQDE WTLVRRNDTFLSLRDV FGKDLIYTLYYWKSSS SGKKTAKTNTNEFLID VDKGENYCFSVQAVIP SRRTANRKSTDSPVEC MGHEKGESRETGHHH HHH (SEQ ID NO:815)	AGIPEKAFNLTWISTD FKTILEWQPKPTNYTY TVQISDRSRNWKNKC FSTTDTECDLTDEIVK DVTWAYEAKVLSVPR RNSVHGDGDQLVIHG EPPFTNAPKFLPYRD TNLGQPVIQQFEQDG RKLNVVVKDSLTLVR KNGTFLTLRQVFGKD LGYIITYRKGSSTGKK TNITNTNEFSIDVEEG VSYCFFVQAMIFSRKT NQNSPGSSTVCTEQW KSFLGETGHHHHHH (SEQ ID NO:819)

Последовательность слитого белка TF ECD-Fc (TF-Fc)	SGTTNTVAAYNLTW	SGTTNTVAAYNLTWKS	AGIPEKAFNLTWISTD
	KSTNFKTILEWEPKPV	TNFKTILEWEPKPINQV	FKTILEWQPKPTNYTY
	NQVYTVQISTKSGDW	YTVQISTKSGDWKSKC	TVQISDRSRNWKNKC
	KSKCFYTTDTECDLT	FYTADTECDLTDEIVK	FSTTDTECDLTDEIVK
	DEIVKDVKQTYLARV	DVKQTYLARVFSYPAG	DVTWAYEAKVLSVPR
	FSYPAGNVESTGSAG	HVESTGSTEEPYPYENSP	RNSVHGDGDQLVIHG
	EPLYENSPEFTPYLET	EFTPYLETNLGQPTIQS	EEPPFTNAPKFLPYRD
	NLGQPTIQSFEQVGTK	FEQVGTKVNVTVQDE	TNLGQPVIQQFEQDG
	VNVTVEDERTLVRRN	WTLVRRNDTFLSLRDV	RKLNVVVKDSLTLVR
	NTFLSLRDVFGKDLIY	FGKDLIYTLYYWKSSS	KNGTFLTLRQVFGKD
	TLYYWKSSSSGKKTA	SGKKTAKTNTNEFLID	LGYYITYRKGSSTGKK
	KTNTNEFLIDVDKGE	VDKGENYCFSVQAVIP	TNITNTNEFSIDVEEG
	NYCFSVQAVIPSRTVN	SRRTANRKSTDSPVEC	VSYCFFVQAMIFSRKT
	RKSTDSPVECMGQEK	MGHEKGESRETGENLY	NQNSPGSSTVCTEQW
	GEFRETGENLYFQGD	FQGDKTHTCPPCPAPEL	KSFLGETGENLYFQG
	KTHTCPPCPAPELLGG	LGGPSVFLFPPKPKDTL	DKTHTCPPCPAPELLG
	PSVFLFPPKPKDTLMI	MISRTPEVTCVVVDVSH	GPSVFLFPPKPKDTLM
	SRTPEVTCVVVDVSH	HEDPEVKFNWYVDGV	ISRTPEVTCVVVDVSH
	EDPEVKFNWYVDGV	EVHNAKTKPREEQYN	EDPEVKFNWYVDGV
	EVHNAKTKPREEQYN	TYRVVSVLTVLHQDW	EVHNAKTKPREEQYN
	STYRVVSVLTVLHQD	LNGKEYKCKVSNKALP	STYRVVSVLTVLHQD
	WLNGKEYKCKVSNK	APIEKTISKAKGQPREP	WLNGKEYKCKVSNK
	ALPAIEKTISKAKGQ	QVYTLPPSREEMTKNQ	ALPAIEKTISKAKGQ
	PREPQVYTLPPSREEM	VSLTCLVKGFYPSDIAV	PREPQVYTLPPSREEM
	TKNQVSLTCLVKGFY	EWESNGQPENNYKTP	TKNQVSLTCLVKGFY
	PSDIAVEWESNGQPE	PVLDSGDGSFFLYSKLTV	PSDIAVEWESNGQPE
	NNYKTPPVLDSDGS	DKSRWQQGNVFSCSV	NNYKTPPVLDSDGS
	FFLYSKLTVDKSRWQ	MHEALHNHYTQKSLSL	FFLYSKLTVDKSRWQ
	QGNVFSCSVMHEALH	SPGK (SEQ ID NO:816)	QGNVFSCSVMHEALH
	NHYTQKSLSLSPGK		NHYTQKSLSLSPGK
	(SEQ ID NO:812)		(SEQ ID NO:820)

Таблица 39 Последовательности антител к TF

Антитело	Домен VH	Домен VL
10H10	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISK	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCKSS

(M1593)	GSGYTFAPYWIEWVRQMPGKGL EWMGDILPGTGFTTYSFQGHV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARSYYYGNSGFAYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:821)	QSLSSGNQKNYLTWYLQKPGQS PQLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQND YTYPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:822)
TF-011	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGL EWVSSISGSGDYTTYTDSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARSPWGYYLDSWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:828)	DIQMTQSPPSLSASAGDRVITTCRA SQGISSRLAWYQQKPEKAPKSLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFATYYCQQYNSYPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:829)
5G9 (гуманизи рованное TF8-5G9, CNTO 860)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCK ASGFNIKDYMHWRQAPGKGL EWIGLIDPENGNTIYDPKFQGRFTI SADNSKNTLFLQMDSL RPEDTAV YYCARDNSYYFDYWGQGTPVTV SS (SEQ ID NO:830)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKA SQDIRKYLNWYQQKPGKAPKLLIY YATSLADGVPSRFSGSGSGTDYTF TISSLQPEDIATYYCLQHGESPYTF GGGTKLEIT (SEQ ID NO:831)

Таблица 41 Последовательности TF свиней

Вид	Свинья (<i>Sus scrofa</i>)
Полноразмерная последовательность [сигнальная последовательность подчеркнута]	<u>MATPTGPPVSCPKAAVARALLLGWVLVQVAGATG</u> TTDVIVAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPINYVYTVQI SPRLGDWKNKCFHTTDTECDVTDEIMRNVKET YV ARVLSYPADTVLTAQEPPFTNSPPFTPYLDTNLGQP VIQSFEQVGTKLNVTV EAARTLVRVNGTFLRLRDV FGKDLNYTLYYWRASSTGKKKATTNTNEFLIDVD KGENYCFSVQAVIPSRRVNQKSPE SRIECTS QEKAV SRELFLIVGAVVFAVIVFVLVLSVSLYKCRKERAGP SGKENAPLNVA (SEQ ID NO:824)
Внеклеточный домен (ECD)	TGTTDVIVAYNL TWKSTNFKTILEWEPKPINYVYT VQISPR LGDWKNKCFHTTDTECDVTDEIMRNVKET YVARVLSYPADTVLTAQEPPFTNSPPFTPYLDTNLG QPVIQSFEQVGTKLNVTV EAARTLVRVNGTFLRLR DVF GKDLNYTLYYWRASSTGKKKATTNTNEFLID VDKGENYCFSVQAVIPSRRVNQKSPE SRIECTS QEK

Вид	Свинья (<i>Sus scrofa</i>)
	AVSRE (SEQ ID NO:825)
Последовательность белка TF ECD-His (TF-His)	TGTTDVIVAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPINYVYT VQISPRLGDWKNKCFHTTDTECDVTDEIMRNVKET YVARVLSYPADTVLTAQEPPFTNSPPFTPYLDTNLG QPVIQSFEQVGTKLNVTVEAARTLVRVNGTFLRLR DVFGKDLNYTLYYWWRASSTGKKKATTNTNEFLID VDKGENYCFSVQAVIPSRRVNQKSPESRIECTSQEK AVSRETGHHHHHH (SEQ ID NO:826)
Последовательность слитого белка TF ECD-Fc (TF-Fc)	TGTTDVIVAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPINYVYT VQISPRLGDWKNKCFHTTDTECDVTDEIMRNVKET YVARVLSYPADTVLTAQEPPFTNSPPFTPYLDTNLG QPVIQSFEQVGTKLNVTVEAARTLVRVNGTFLRLR DVFGKDLNYTLYYWWRASSTGKKKATTNTNEFLID VDKGENYCFSVQAVIPSRRVNQKSPESRIECTSQEK AVSRETGENLYFQGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFL FPPPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:827)

Таблица 49 Последовательности TF кролика

Вид	Кролик (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)
Полноразмерная последовательность [сигнальная последовательность подчеркнута]	<u>MAPPTRLQVPRPGTAVPYTVLLGWLLAQV</u> <u>ARAADTT</u> GRAYNLTWKSTNFKTILEWEPKSIDHV YTVQISTRLENWKSCKFLTAETECDLTDEVVKDVG QTYMARVLSYPARNGNTTGFPEEPPFRNSPEFTPY LDTNLGQPTIQSFEQVGTKLNVTVQDARTLVRVNG TFLSLRAVFGKDLNYTLYYWWRASSTGKKATTNT NEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRRKRKQRSPELSE CTSREQGRAREMFFIIGAVVVVALLIIVLSVTYKCK RKARAGPSGKESSPLNIA (SEQ ID NO:832)

Вид	Кролик (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)
Внеклеточный домен (ECD)	ADTTGRAYNLTWKSTNFKTILEWEPKSIDHVYTVQ ISTRLENWWSKCFLTAETECDLTDEVVKDVGQTY MARVLSYPARNGNTTGFPEEPPFRNSPEFTPYLDT NLGQPTIQSFEQVGTKLNVTVQDARTLVRRNGTFL SLRAVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKKTATTNTNEF LIDVDKGENYCFSVQAVIPSRKRKQRSPELTECTS REQGRAREM (SEQ ID NO:833)
Последовательность белка TF ECD-His (TF-His)	ADTTGRAYNLTWKSTNFKTILEWEPKSIDHVYTVQ ISTRLENWWSKCFLTAETECDLTDEVVKDVGQTY MARVLSYPARNGNTTGFPEEPPFRNSPEFTPYLDT NLGQPTIQSFEQVGTKLNVTVQDARTLVRRNGTFL SLRAVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKKTATTNTNEF LIDVDKGENYCFSVQAVIPSRKRKQRSPELTECTS REQGRAREMTGHHHHHH (SEQ ID NO:834)
Последовательность слитого белка TF ECD-Fc (TF-Fc)	ADTTGRAYNLTWKSTNFKTILEWEPKSIDHVYTVQ ISTRLENWWSKCFLTAETECDLTDEVVKDVGQTY MARVLSYPARNGNTTGFPEEPPFRNSPEFTPYLDT NLGQPTIQSFEQVGTKLNVTVQDARTLVRRNGTFL SLRAVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKKTATTNTNEF LIDVDKGENYCFSVQAVIPSRKRKQRSPELTECTS REQGRAREMENLYFQGDKTHTCPPCPAPPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:835)

Таблица 56 Последовательности ECD TF крысы и ECD химерных конструкций

Крысиная/химерная конструкция	Последовательность внеклеточного домена (ECD)

Крысиная/химерная конструкция	Последовательность внеклеточного домена (ECD)
rTF (TF крысы)	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRSRNWKYKCTGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSVPWRNSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKIGQPVQKYEQGGTKLKVTVKDSFTLVRKNGTFLTLRQVFGNDLGYILTYRKDSSTGRKTNTTHTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAVIFSRKTNHKSPESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID NO:838)
h1-107_r	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRSRNWKYKCTGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSVPWRNSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSR TVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:839)
h1-77_r	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRSRNWKYKCTGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSYPAG NVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:840)
h1-38_r	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAG NVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:841)
h39-77_r	SGTTNTVAAYNLTKWSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISDRSRNWKYKCTGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSYPAG NVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:842)

Крысиная/химерная конструкция	Последовательность внеклеточного домена (ECD)
h78-107_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSVP WRNSTHGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQSFEQV GTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYW KSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVN RKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:843)
h78-107_r.v2	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSVP WRNSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQ SFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYT LYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIP SRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:844)
h78-93_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSVP WRNSTHGKETLFGTHGEEPPYENSPEFTPYLETNLGQPTIQ SFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYT LYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIP SRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:845)
h94-107_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:846)
h108-219_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNIGQPVIQKYEQGGT KLKVTVKDSFTLVRKNGTFLTLRQVFGNDLGYILTYRKDS STGRKTNTTHTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAVIFSRTKNHKS PESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID NO:847)

Крысиная/химерная конструкция	Последовательность внеклеточного домена (ECD)
h108-158_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNIGQPVIQKYEQGGT KLKVTVKDSFTLVRKNGTFLTLRQVFGNDLGYILTYRKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:848)
h108-132_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNIGQPVIQKYEQGGT KLKVTVKDSFTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:849)
h133-158_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRKNGTFLTLRQVFGNDLGYILTYRKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:850)
h133-145_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRKNGTFLTLRQVFGKDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:851)
h133-139_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRKNGTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:852)

Крысиная/химерная конструкция	Последовательность внеклеточного домена (ECD)
h140-145_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLTLRQVFGKDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:853)
h146-158_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGNDLG YILTYRKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:854)
h146-151_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGNDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:855)
h152-158_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLGYILTYRKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:856)
h159-219_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKDS STGRKTNTHNTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAVIFSRTKNHKS PESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID NO:857)

Крысиная/химерная конструкция	Последовательность внеклеточного домена (ECD)
h159-189_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKDS STGRKTNTHHTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:858)
h159-174_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKDS STGRKTNTHHTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:859)
h159-166_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKDS STGRKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:860)
h167-174_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSS SSGKKTNTHHTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:861)
h175-189_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:862)

Крысиная/химерная конструкция	Последовательность внеклеточного домена (ECD)
h190-219_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIFSRKTNHKS PESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID NO:863)
hTF_K68N	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVNQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:865)
hTF_K149N	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGNDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:866)
hTF_N171H_T197K	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTHTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRKVNRK STDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID NO:867)
r141-194_h	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRS RNWKYKCTGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSVPWR NSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKIGQPVIQKY EQGGTKLKVTVKDSFTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLY YWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIFSR KTNHKS PESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID NO:864)

Таблица 57 Консенсусная последовательности варибельной области

Группа	Консенсусные последовательности домена VH (SEQ ID NO)	Консенсусные последовательности домена VL (SEQ ID NO)

Группа	Консенсусные последовательности домена VH (SEQ ID NO)	Консенсусные последовательности домена VL (SEQ ID NO)
Группа 25A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFD _x [V/A]YGISWVRQAPGQ GLEWMGWIAPY _x [N/S]GNTNYAQK LQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLR SDDTAVYYCARDAGTYSFPGYGM DVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:868)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC _x [R/ Q]AS _x [Q/E]SI _x [S/N] _x [S/N]WLAWYQ QKPGKAPKLLIYK _A _x [S/Y] _x [S/N]LE _x [S/Y]GVPSRFSGSGSGTEFTLTISL QPDDFATYYCQ _x [Q/L]FQ _x [S/K]LPP FTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:869)
Группа 25G	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEW MGWVAPY _x [N/S]GNTNYAQKLQG RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCARDAGTYSPIGYGMDV WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:870)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC _x [R/ Q]AS _x [Q/H]SI _x [S/D]SWLAWYQKPK GKAPKLLIY _x [K/S]AS _x [S/Y]LESGVP SRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDFAT YYCQ _x [Q/L/R]FQSLPPFTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO:871)

Таблица 58 Консенсусные последовательности CDR

Группа антител	Группа 25A	Группа 25G
Посл. CDR VH*	CDR1 VH GYTFD _x [V/A]YGIS (SEQ ID NO:872)	GYTFRSYGIS (SEQ ID NO:878)
	CDR2 VH WIAPY _x [N/S]GNTNYAQKLQ G (SEQ ID NO:873)	WVAPY _x [N/S]GNTNYAQKLQ G (SEQ ID NO:879)
	CDR3 VH DAGTYSFPGYGM (SEQ ID NO:874)	DAGTYSPIGYGMDV (SEQ ID NO:880)
Посл. CDR VL*	CDR1 VL _x [R/Q]AS _x [Q/E]SI _x [S/N] _x [S/N] WLA (SEQ ID NO:875)	_x [R/Q]AS _x [Q/H]SI _x [S/D]SWLA (SEQ ID NO:881)
	CDR2 VL K _A _x [S/Y] _x [S/N]LE _x [S/Y] (SEQ ID NO:876)	_x [K/S]AS _x [S/Y]LES (SEQ ID NO:882)
	CDR3 VL Q _x [Q/L]FQ _x [S/K]LPPFT (SEQ ID NO:877)	Q _x [Q/L/R]FQSLPPFT (SEQ ID NO:883)

*Иллюстративные последовательности CDR содержат аминокислоты, определенные по Kabat плюс Chothia

Таблица 59 Последовательности антител к TF

жирным шрифтом выделены вариабельные области; цистеины, участвующие в

конъюгации лекарств, подчеркнуты. Клоны в таблице 13 имеют одинаковые константные области тяжелой цепи. Клоны в таблице 13 имеют одинаковые константные области легкой цепи.

Клон	Тяжелая цепь	Легкая цепь
25A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLE WMGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVT MTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDAGTYSFPGYGM¹MDVWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG (SEQ ID NO: 939)	DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCRASQSISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYKASSLESG VPSRFSGSGSGTEFTLTIS LQPDDFATYYCQQFQSLP PFTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC (SEQ ID NO: 944)
25A3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLE WMGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVT MTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDAGTYSFPGYGM¹MDVWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK	DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCQASQSINNWLAWYQ QKPGKAPKLLIYKAYNLE SGVPSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPDDFATYYCQLFQSL PPFTFGGGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC (SEQ ID NO: 945)

Клон	Тяжелая цепь	Легкая цепь
	PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG (SEQ ID NO: 940)	
25A5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLE WMGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVT MTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDAGTYSFPGYGM DVWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG (SEQ ID NO: 941)	DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCRASESISNWLAWYQ QKPGKAPKLLIYKAYSLE YGVPSRFSGSGSGTEFTLT ISSLPDDFATYYCQQFQK LPPFTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (SEQ ID NO: 921)
25A5T	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFDAYGISWVRQAPGQGLE WMGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVT MTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDAGTYSFPGYGM DVWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV	DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCRASESISNWLAWYQ QKPGKAPKLLIYKAYSLE YGVPSRFSGSGSGTEFTLT ISSLPDDFATYYCQQFQK LPPFTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKV

Клон	Тяжелая цепь	Легкая цепь
	PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG (SEQ ID NO:920)	DNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (SEQ ID NO:921)
25G	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEW MGWVAPYNGNTNYAQKLQGRVT MTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDAGTYSPIGYGMDVWGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDR RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG (SEQ ID NO: 942)	DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCRASQSISSWLAWYQQ KPGKAPKLLIYKASSLESG VPSRFSGSGSGTEFTLTIS LQPDDEFATYYCQQFQSLP PFTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC (SEQ ID NO: 946)
25G1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEW MGWVAPYSGNTNYAQKLQGRVT MTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV	DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCRASHSIDSWLAWYQ QKPGKAPKLLIYKASYLES GVPSRFSGSGSGTEFTLTIS

Клон	Тяжелая цепь	Легкая цепь
	YYCARDAGTYSPIGYGMDVWGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG (SEQ ID NO: 922)	SLQPDDFATYYCQLFQSLP PFTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC (SEQ ID NO: 947)
25G9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEW MGWVAPYSGNTNYAQKLQGRVT MTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDAGTYSPIGYGMDVWGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG (SEQ ID NO:922)	DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITCQASQSIDSWLAWYQ QKPGKAPKLLIYSASYLES GVPSRFGSGSGSGTEFTLTIS SLQPDDFATYYCQRFQSLP PFTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC (SEQ ID NO:923)

Клон	Тяжелая цепь	Легкая цепь
Консенсусная последовательность линия 25A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFD_x[V/A]YGISWVRQAPGQG LEWMGWIAPY_x[N/S]GNTNYAQKL QGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDAGTYSFPGYGMD VWGQGT_{TV}TVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG (SEQ ID NO: 943)	DIQMTQSPSTLSASVGDRV TITC_x[R/Q]AS_x[Q/E]SI_x[S/N]_x[S/N]WLAWYQQKPGKA PKLLIYKA_x[S/Y]_x[S/N]LE_x[S/Y]GVPSRFSGSGSGSTEFT LTISSLQPDDFATYYCQ_x[Q /L]FQ_x[S/K]LPPFTFGGGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSTL TLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 948)
43D7	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSLSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIGASGSTRYNPSLKSRTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ARDTPYYYEGGYYYYMDVWGKG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERA TLSCRASDSVDSSYLAWY QQKPGQAPRLLIYGAFSR ANGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQAG VVPYTFGGGTKEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDS KDYSLSTLTLTKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO:925)

Клон	Тяжелая цепь	Легкая цепь
	LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG (SEQ ID NO:924)	
43D8	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSLSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIGASGSTRYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ARDTPYYYEGGYYYYMDVWGKG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGSPV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG (SEQ ID NO:926)	EIVLTQSPGTLSLSPGERA TLSCRASQSVSSSFLAWYQ QKPGQAPRLLIYGAYSRA TGIPDRFSGSGSGTDFTLTI SRLEPEDFAVYYCQQAGV VPYTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC (SEQ ID NO:927)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту выделенного антитела, причем антитело связывается с внеклеточным доменом тканевого фактора (TF) человека, при этом антитело связывается с TF человека в сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связанного FVIIa человека.

2. Способ по п. 1, в котором вирусная инфекция представляет собой коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2).

3. Способ по п. 1, в котором воспалительное заболевание выбрано из: колита, воспалительного заболевания кишечника, артрита, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и респираторно-синцитиального вируса (РСВ).

4. Способ по п. 3, в котором воспалительное заболевание представляет собой колит.

5. Способ по п. 3, в котором воспалительное заболевание представляет собой воспалительное заболевание кишечника (ВЗК).

6. Способ по п. 3, в котором воспалительное заболевание представляет собой артрит.

7. Способ по п. 3, в котором воспалительное заболевание представляет собой острое повреждение легких.

8. Способ по п. 3, в котором воспалительное заболевание представляет собой ОРДС.

9. Способ по п. 3, в котором воспалительное заболевание представляет собой РСВ.

10. Способ по п. 1, в котором воспалительное заболевание представляет собой сердечно-сосудистое заболевание или повреждение.

11. Способ по п. 10, в котором сердечное заболевание или повреждение представляет собой инфаркт миокарда.

12. Способ по п. 1, в котором воспалительное заболевание представляет собой сердечно-сосудистое заболевание, связанное с повышением уровня активируемого протеазой рецептора 2 (PAR-2).

13. Способ по любому из пп. 1-12, в котором антитело не ингибирует образование тромбина у человека, как определено с помощью анализа образования тромбина (TGA).

14. Способ по любому из пп. 1-13, в котором выделенное человеческое антитело не ингибирует или ингибирует образование тромбина человека в меньшей степени, как определено с помощью анализа образования тромбина (TGA), по сравнению с эталонным антителом, содержащим последовательность V_H с SEQ ID NO:821 и последовательность V_L с SEQ ID NO:822.

15. Способ по п. 14, в котором связывание между выделенным антителом и вариантом внеклеточного домена TF, содержащим мутацию в аминокислотном остатке 149 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, составляет менее 50% от

связывания между выделенным антителом и внеклеточным доменом TF последовательности, приведенной в SEQ ID NO:810, как определено по медианному значению интенсивности флуоресценции выделенного антитела относительно изотипического контроля в анализе окрашивания живых клеток.

16. Способ по любому из пп. 1-15, в котором антитело содержит все три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из группы антител в таблице 35, при этом все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи относятся к той же группе антител.

17. Способ по любому из пп. 1-15, в котором антитело содержит все три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (CDR) и все три CDR легкой цепи из антитела в любой из таблиц 15-34, при этом все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи получены из одного и того же антитела.

18. Способ по п. 17, включающий все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-T, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, антитела, обозначенного 25G9, антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea.

19. Способ по п. 18, включающий все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 43B, антитела, обозначенного 43B1, антитела, обозначенного 43B7, антитела, обозначенного 43D, антитела, обозначенного 43D7, антитела, обозначенного 43D8, антитела, обозначенного 43E, или антитела, обозначенного 43Ea.

20. Способ по п. 18, включающий все три CDR тяжелой цепи и все три CDR легкой цепи из: антитела, обозначенного 25A, антитела, обозначенного 25A5, антитела, обозначенного 25A5-T, антитела, обозначенного 25G, антитела, обозначенного 25G1, или антитела, обозначенного 25G9.

21. Способ по любому из пп. 1-15, в котором антитело содержит последовательность домена VH и последовательность домена VL из таблицы 14, при этом последовательности домена VH и VL относятся к одной и той же группе в таблице 14.

22. Способ по любому из пп. 1-15, в котором антитело содержит последовательность домена VH и последовательность домена VL из таблицы 13, при этом последовательности домена VH и VL получены из одного и того же клона в таблице 13.

23. Способ по п. 1 или 13, в котором антитело содержит: VH-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:797; VH-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:798; VH-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:799; VL-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:800; VL-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:801; и VL-CDR3, включающую

последовательность, указанную в SEQ ID NO:802.

24. Способ по п. 23, в котором антитело содержит: VH-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:571; VH-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:572; VH-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:573; VL-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:574; VL-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:575; и VL-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:576.

25. Способ по п. 23, в котором антитело содержит: VH-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:609; VH-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:610; VH-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:611; VL-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:612; VL-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:613; и VL-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:614.

26. Способ по любому из пп. 1-13 и п. 23, в котором антитело содержит последовательность VH, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 769, и последовательность VL, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO: 770.

27. Способ по п. 26, в котором антитело содержит последовательность VH, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:569, и последовательность VL, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:570.

28. Способ по п. 26, в котором антитело содержит последовательность VH, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:607, и последовательность VL, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:608.

29. Способ по п. 24 или 28, в котором антитело содержит: тяжелую цепь, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:924, и легкую цепь, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:925.

30. Способ по п. 26, в котором антитело содержит последовательность VH, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:645, и последовательность VL, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:646.

31. Способ по п. 25 или 30, в котором антитело содержит: тяжелую цепь, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:926, и легкую цепь, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:927.

32. Способ по любому из пп. 1-15, в котором антитело содержит: VH-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:779; VH-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:780; VH-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:781; VL-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:782; VL-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:783; и VL-CDR3, включающую

последовательность, указанную в SEQ ID NO:784.

33. Способ по любому из пп. 1-16, в котором антитело содержит: VH-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:872; VH-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:873; VH-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:874; VL-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:875; VL-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:876; и VL-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:877.

34. Способ по п. 33, в котором антитело содержит: VH-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:884; VH-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:885; VH-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:886; VL-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:887; VL-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:888; и VL-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:889.

35. Способ по любому из пп. 1-16 и 33, в котором антитело содержит последовательность VH, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:868, и последовательность VL, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:869.

36. Способ по п. 35, в котором антитело содержит последовательность VH, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:189, и последовательность VL, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:190.

37. Способ по п. 35, в котором антитело содержит последовательность VH, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:836, и последовательность VL, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:837.

38. Способ по п. 34 или 37, в котором антитело содержит: тяжелую цепь, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:920, и легкую цепь, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:921.

39. Способ по любому из пп. 1-16, в котором антитело содержит: VH-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:878; VH-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:879; VH-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:880; VL-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:881; VL-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:882; и VL-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:883.

40. Способ по п. 39, в котором антитело содержит: VH-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:267; VH-CDR2, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:268; VH-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:269; VL-CDR1, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:270; VL-CDR2, включающую

последовательность, указанную в SEQ ID NO:271; и VL-CDR3, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:272.

41. Способ по любому из пп. 1-16 и 39, в котором антитело содержит последовательность VH, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:870, и последовательность VL, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:871.

42. Способ по п. 41, в котором антитело содержит последовательность VH, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:303, и последовательность VL, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:304.

43. Способ по п. 40 или 42, в котором антитело содержит: тяжелую цепь, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:922, и легкую цепь, включающую последовательность, указанную в SEQ ID NO:923.

44. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 25A5, антителом, обозначенным 25A5-T, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, антителом, обозначенным 25G9, антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом, обозначенным 43B7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43E, или антителом, обозначенным 43Ea.

45. Способ по п. 44, в котором антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом, обозначенным 43B7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43E, или антителом, обозначенным 43Ea.

46. Способ по п. 44, в котором антитело конкурирует за связывание с TF человека с антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 25A5, антителом, обозначенным 25A5-T, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, или антителом, обозначенным 25G9.

47. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связан антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 25A5, антителом, обозначенным 25A5-T, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, антителом, обозначенным 25G9, антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом, обозначенным 43B7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43E, или антителом, обозначенным 43Ea.

48. Способ по п. 47, в котором антитело связывается с тем же эпитопом TF человека, который связан антителом, обозначенным 43B, антителом, обозначенным 43B1, антителом, обозначенным 43B7, антителом, обозначенным 43D, антителом, обозначенным 43D7, антителом, обозначенным 43D8, антителом, обозначенным 43E, или антителом, обозначенным 43Ea.

49. Способ по п. 47, в котором антитело связывается с тем же эпитопом TF

человека, который связан антителом, обозначенным 25A, антителом, обозначенным 25A5, антителом, обозначенным 25A5-T, антителом, обозначенным 25G, антителом, обозначенным 25G1, или антителом, обозначенным 25G9.

50. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором антитело не ингибирует образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA), не снижает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик Па) по сравнению с изотипическим контролем, не увеличивает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем, не снижает потенциал эндогенного тромбина (ETP), как определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, допускает образование тромбина человека, как определено анализом образования тромбина (TGA), поддерживает пик тромбина на кривой образования тромбина (пик Па) по сравнению с изотипическим контролем, поддерживает время от начала анализа до пика тромбина на кривой образования тромбина (вдПика) по сравнению с изотипическим контролем, сохраняет потенциал эндогенного тромбина (ETP), как определено по площади под кривой образования тромбина, по сравнению с изотипическим контролем, связывает TF человека на сайте связывания TF человека, который отличается от сайта связывания TF человека, связываемого FX человека, не влияет на способность TF:FVIIa превращать FX в FXa и не конкурирует за связывание TF человека с FVIIa человека.

51. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи определяют с использованием иллюстративной нумерации, нумерации Kabat, Chothia, AbM, Contact или IMGT.

52. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором антитело специфически связывается с TF яванского макака.

53. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором антитело специфически связывается с TF мыши.

54. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором антитело специфически связывается с TF кролика.

55. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором антитело специфически связывается с TF свиньи.

56. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором заболевание включает васкулярное воспаление.

57. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором заболевание включает местное воспаление.

58. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором заболевание включает системное воспаление.

59. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором заболевание включает инфильтрацию мононуклеарных клеток и/или гранулоцитов.

60. Способ по п. 59, в котором мононуклеарные клетки включают макрофаги и/или лимфоциты.

61. Способ по п. 59 или 60, в котором гранулоциты включают нейтрофилы и/или эозинофилы.

62. Способ по любому из пп. 1 и 13-61, в котором воспалительное заболевание выбрано из группы, состоящей из: колита, воспалительного заболевания кишечника, артрита, острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), респираторно-синцитиального вируса (РСВ), инфаркта миокарда и коронавируса тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2).

63. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело снижает общее количество лейкоцитов.

64. Способ по п. 63, в котором общее количество лейкоцитов определяют с помощью световой микроскопии.

65. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело снижает общее количество гранулоцитов.

66. Способ по п. 65, в котором гранулоциты включают нейтрофилы.

67. Способ по п. 65 или 66, в котором гранулоциты включают эозинофилы.

68. Способ по любому из пп. 65-67, в котором общее количество гранулоцитов определяют с помощью иммуногистохимического (ИГХ) анализа или дифференциального подсчета клеток в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ).

69. Способ по любому из пп. 65-68, в котором гранулоциты присутствуют в альвеолах.

70. Способ по любому из пп. 65-68, в котором гранулоциты присутствуют в интерстициальной жидкости.

71. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело снижает общее количество мононуклеарных клеток.

72. Способ по п. 71, в котором мононуклеарные клетки включают макрофаги.

73. Способ по п. 71 или п. 72, в котором макрофаги включают макрофаги M1.

74. Способ по любому из пп. 71-73, в котором мононуклеарные клетки включают лимфоциты.

75. Способ по любому из пп. 71-74, в котором мононуклеарные клетки включают моноциты.

76. Способы по любому из пп. 71-74, в которых общее количество мононуклеарных клеток определяют с помощью иммуногистохимического (ИГХ) анализа или дифференциального подсчета клеток в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ).

77. Способ по любому из 71-76, в котором мононуклеарные клетки присутствуют в альвеолах.

78. Способ по любому из пп. 71-76, в котором мононуклеарные клетки присутствуют в интерстициальной жидкости.

79. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту у субъекта сохраняется или увеличивается масса тела по сравнению с исходными уровнями.

80. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело поддерживает или увеличивает массу тела по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

81. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело уменьшает размер селезенки или устраняет спленомегалию по сравнению с исходными уровнями.

82. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело уменьшает размер селезенки или устраняет спленомегалию по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

83. Способ по п. 81 или 82, в котором размер селезенки или спленомегалию определяют с помощью пальпации, перкуссии, ультразвукового исследования, компьютерной томографии (КТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ).

84. Способ по любому из пп. 1 и 13-83, в котором воспалительное заболевание представляет собой острое повреждение легких.

85. Способ по любому из пп. 1 и 13-83, в котором воспалительное заболевание представляет собой острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС).

86. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело увеличивает чистый клиренс альвеолярной жидкости по сравнению с исходными уровнями.

87. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело увеличивает чистый клиренс альвеолярной жидкости по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

88. Способ по п. 86 или 87, в котором чистый клиренс альвеолярной жидкости определяют путем последовательного измерения концентраций белка отечной жидкости.

89. Способ по п. 88, в котором концентрации белка отечной жидкости последовательно измеряют с помощью твердофазного ИФА.

90. Способ по любому из пп. 1 и 13-83, в котором воспалительное заболевание представляет собой SARS-CoV-2.

91. Способ по п. 90, в котором после введения субъекту у субъекта сохраняется или увеличивается масса тела по сравнению с исходными уровнями.

92. Способ по п. 90 или 91, в котором при введении субъекту антитело поддерживает или увеличивает массу тела по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

93. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело снижает концентрацию воспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с исходными уровнями.

94. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело снижает концентрацию воспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

95. Способ по п. 93 или 94, в котором воспалительные цитокины и хемокины

присутствуют в образцах бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ).

96. Способ по любому из пп. 93-95, в котором воспалительные цитокины и хемокины присутствуют в образцах гомогената легких.

97. Способ по любому из пп. 93-96, в котором воспалительные цитокины и хемокины включают одно или более из: IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN γ , GM-CSF, TNF α , CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL19, CCL20, CCL25, CXCL1, CXCL2 и CXCL10.

98. Способ по любому из пп. 93-96, в котором воспалительные цитокины и хемокины включают VEGF.

99. Способ по любому из пп. 93-96, в котором воспалительные цитокины и хемокины включают одно или более из: GMCSF, VEGF, IL17F, IL-1-бета, IL-6, IFN γ , IL-8 и KC.

100. Способ по любому из пп. 93-98, в котором воспалительные цитокины и хемокины измеряют с помощью твердофазного ИФА.

101. Способ по любому из пп. 93-98, в котором воспалительные цитокины и хемокины измеряют с использованием мультиплексного анализа Luminex.

102. Способ по любому из пп. 1 и 13-83, в котором воспалительное заболевание представляет собой вирусную инфекцию.

103. Способ по п. 102, в котором при введении субъекту антитело повышает уровни противовоспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с исходными уровнями.

104. Способ по п. 102 или 103, в котором при введении субъекту антитело повышает уровни противовоспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

105. Способ по любому из пп. 102-104, в котором противовоспалительные цитокины и хемокины включают одно или более из: IL-10 и IL27p28.

106. Способ по любому из пп. 102-105, в котором противовоспалительные цитокины и хемокины присутствуют в образцах бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ).

107. Способ по любому из пп. 102-106, в котором воспалительные цитокины и хемокины измеряют с помощью мультиплексного электрохемилюминесцентного анализа MSD.

108. Способ по любому из пп. 102-106, в котором воспалительные цитокины и хемокины измеряют с использованием мультиплексного анализа Luminex.

109. Способ по любому из пп. 1-83 и 86-101, в котором воспалительное заболевание представляет собой РСВ.

110. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело уменьшает фиброз в легких по сравнению с исходными уровнями.

111. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело уменьшает фиброз в легких по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

112. Способ по п. 110 или 111, в котором фиброз определяют с помощью ИГХ анализа.

113. Способ по п. 110 или 111, в котором фиброз определяют с помощью количественной компьютерной томографии высокого разрешения (qHRCT).

114. Способ по любому из пп. 1 и 13-83, в котором воспалительное заболевание представляет собой артрит.

115. Способ по 114, в котором при введении субъекту антитело снижает концентрацию воспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с исходными уровнями.

116. Способ по п. 114 и п. 115, в котором при введении субъекту антитело снижает концентрацию воспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

117. Способ по п. 115 или 116, в котором воспалительные цитокины и хемокины включают одно или более из: IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN γ , GM-CSF, TNF α , CCL2, CCL3, CCL4, CCL5 CCL19, CCL20, CCL25, CXCL1, CXCL2 и CXCL10.

118. Способ по любому из пп. 1 и 13-83, в котором воспалительное заболевание представляет собой колит.

119. Способ по любому из пп. 1 и 13-83, в котором воспалительное заболевание представляет собой воспалительное заболевание кишечника.

120. Способ по п. 118 или п. 119, в котором при введении субъекту антитело приводит к нормализации консистенции стула или повышает плотность консистенции стула по сравнению с исходными уровнями.

121. Способ по любому из пп. 118 или 120, в котором при введении субъекту антитело приводит к нормализации консистенции стула или повышает плотность консистенции стула по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

122. Способ по п. 120 или 121, в котором консистенцию стула определяют с использованием Бристольской шкалы формы стула.

123. Способ по любому из пп. 118-122, в котором при введении субъекту антитело уменьшает количество крови или приводит к отсутствию крови в стуле субъекта по сравнению с исходными уровнями.

124. Способ по любому из пп. 118-123, в котором при введении субъекту антитело уменьшает количество крови или приводит к отсутствию крови в стуле субъекта по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

125. Способ по п. 123 или п. 124, в котором кровь в стуле субъекта измеряют с помощью анализа на скрытую кровь.

126. Способ по любому из пп. 118-125, в котором при введении субъекту антитело снижает концентрацию воспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с исходными уровнями.

127. Способ по п. 118 и п. 126, в котором при введении субъекту антитело снижает

концентрацию воспалительных цитокинов и хемокинов по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

128. Способ по п. 126 или 127, в котором воспалительные цитокины и хемокины включают одно или более из: IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN γ , GM-CSF, TNF α , CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL19, CCL20, CCL25, CXCL1, CXCL2 и CXCL10.

129. Способ по любому из пп. 1 и 13-83, в котором воспалительное заболевание представляет собой инфаркт миокарда.

130. Способ по п. 129, в котором при введении субъекту антитело уменьшает размер инфаркта по сравнению с исходными уровнями.

131. Способ по п. 129 или 130, в котором при введении субъекту антитело уменьшает размер инфаркта по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

132. Способ по п. 129-131, в котором при введении субъекту антитело увеличивает фракцию выброса левого желудочка по сравнению с исходными уровнями.

133. Способ по п. 129-132, в котором при введении субъекту антитело увеличивает фракцию выброса левого желудочка по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

134. Способ по п. 129-133, в котором при введении субъекту антитело уменьшает конечно-диастолический объем левого желудочка по сравнению с исходными уровнями.

135. Способ по п. 129-134, в котором при введении субъекту антитело уменьшает конечно-диастолический объем левого желудочка по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

136. Способ по пп. 129-135, в котором при введении субъекту антитело снижает рекрутирование воспалительных клеток в инфарктный миокард по сравнению с исходными уровнями.

137. Способ по пп. 129-136, в котором при введении субъекту антитело снижает рекрутирование воспалительных клеток в инфарктный миокард по сравнению с другим противовоспалительным терапевтическим средством.

138. Способ по п. 136 или п. 137, в котором воспалительные клетки выбраны из CD45⁺, CD11b⁺, Ly6C^{hi}, CD45⁺/CD90.2⁻/NK1.1⁻/CD11b⁺, CD45⁺/CD90.2⁻/NK1.1⁻/CD11b⁺/Ly6C^{hi} и CD45⁺/CD90.2⁻/NK1.1⁻/CD11b⁺/Ly6C^{lo}.

139. Способ по любому из пп. 136-138, в котором рекрутирование воспалительных клеток измеряют с помощью проточной цитометрии.

140. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором при введении субъекту антитело приводит к снижению потребности в системных стероидах.

141. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором другое противовоспалительное терапевтическое средство включает одно или более из: нестероидного противовоспалительного препарата (НПВП), стероидного противовоспалительного средства, бета-агониста, антихолинергического средства, антигистаминного средства и метилксантина.

142. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором другое противовоспалительное терапевтическое средство включает любое из: ингибитора IL-6, анти-GM-CSF, анти-TNF α , анти-IL-1 α , дексаметазона, хемокина и антагониста хемокинового рецептора и ингибитора JAK.

143. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором антитело вводят раз в две недели.

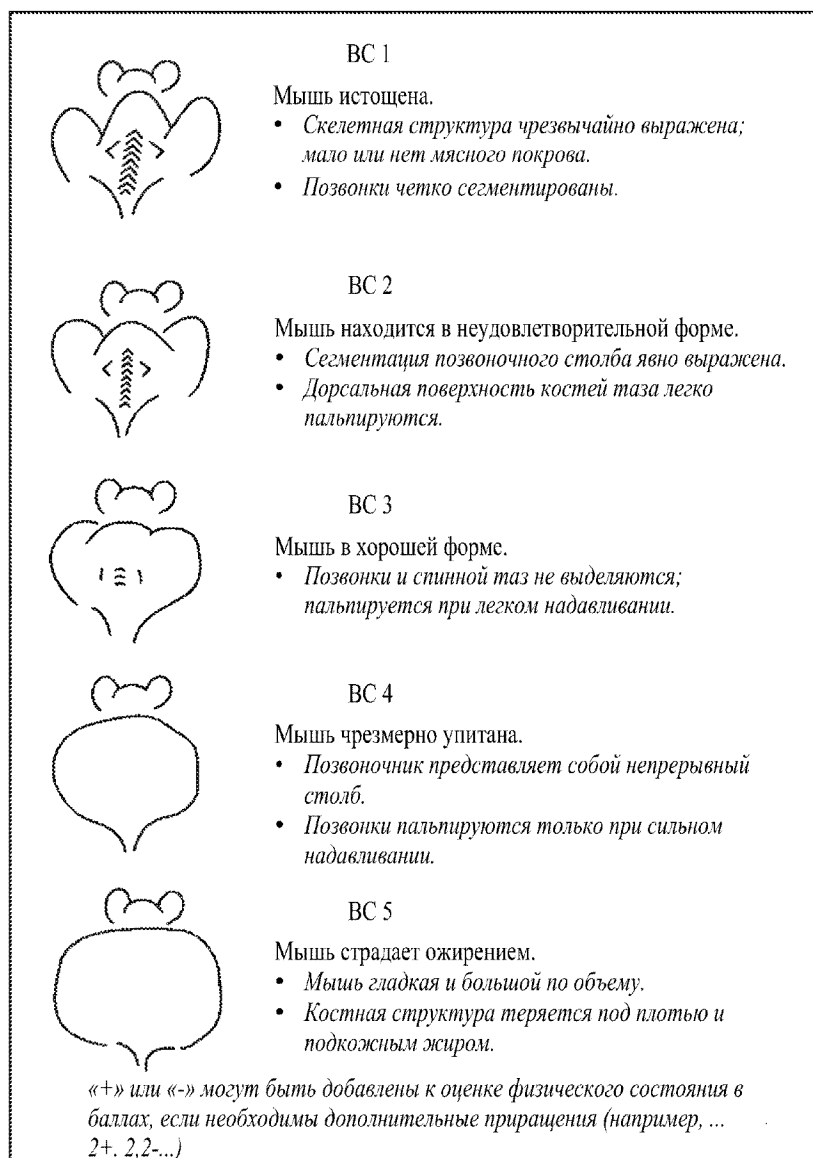
144. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором антитело вводят еженедельно.

По доверенности

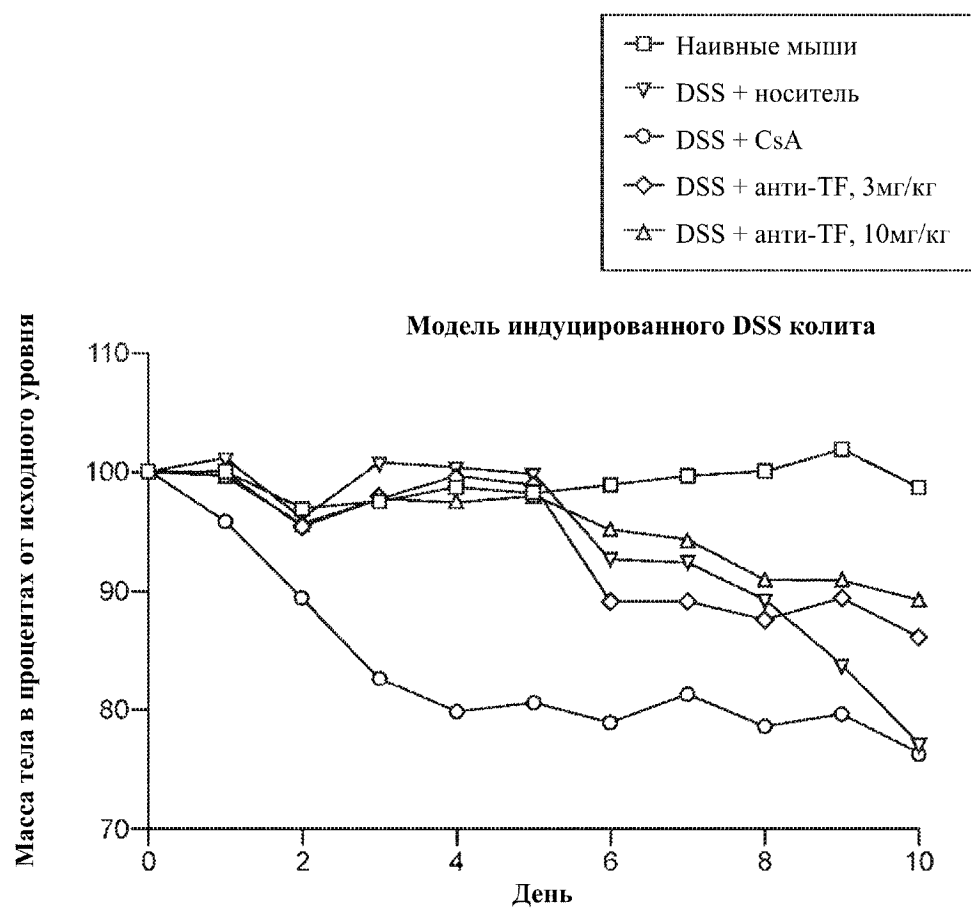
Характеристики болезней человека (ОПЛ/ОРДС)		Matute-Bello 2008 American Journal of Physiology
Клинические признаки	Острый дебют Диффузное двустороннее альвеолярное повреждение, Острая экссудативная фаза, Восстановление с фиброзом	
Физиологические изменения	Вентиляционно-перфузионные нарушения Тяжелая гипоксемия Сниженная растяжимость Нарушение клиренса альвеолярной жидкости	
Изменения биологических показателей	Повышение эндотелиальной и эпителиальной проницаемости, Увеличение концентрации цитокинов в легких, Активация протсаз, Нарушения коагуляции	
Патологические изменения	Нейтрофильная инфильтрация альвеол Внутриальвеолярная коагуляция и отложение фибрина Повреждение альвеолярного эпителия с оголением базальной мембраны	

Фиг. 1

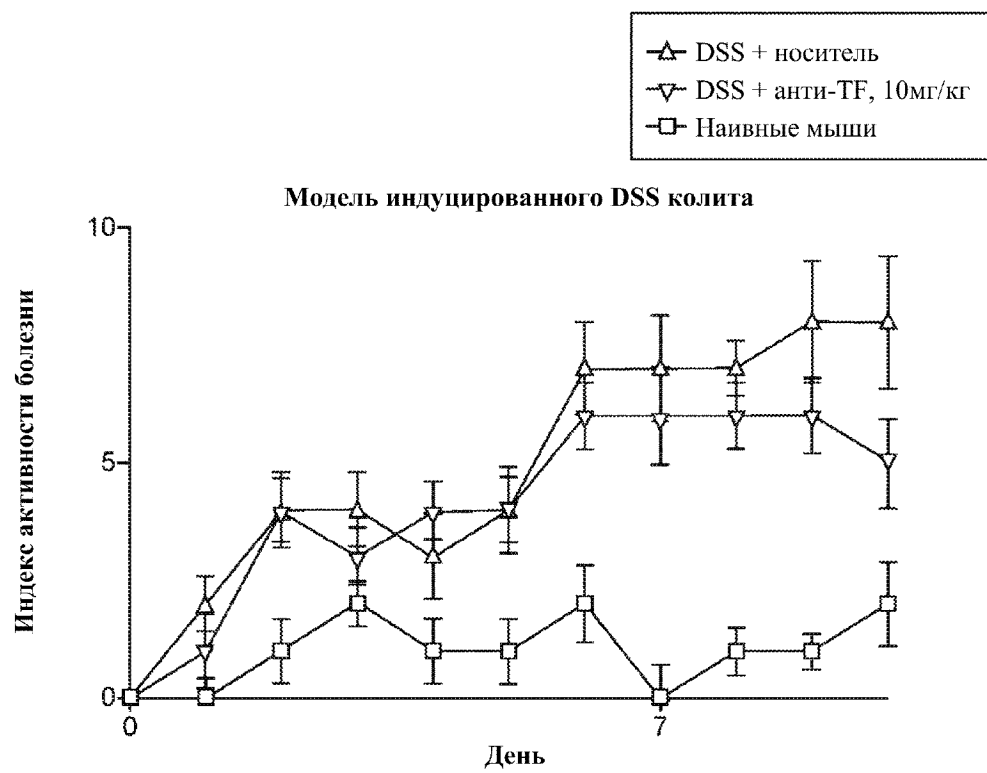
Оценка физического состояния в баллах:



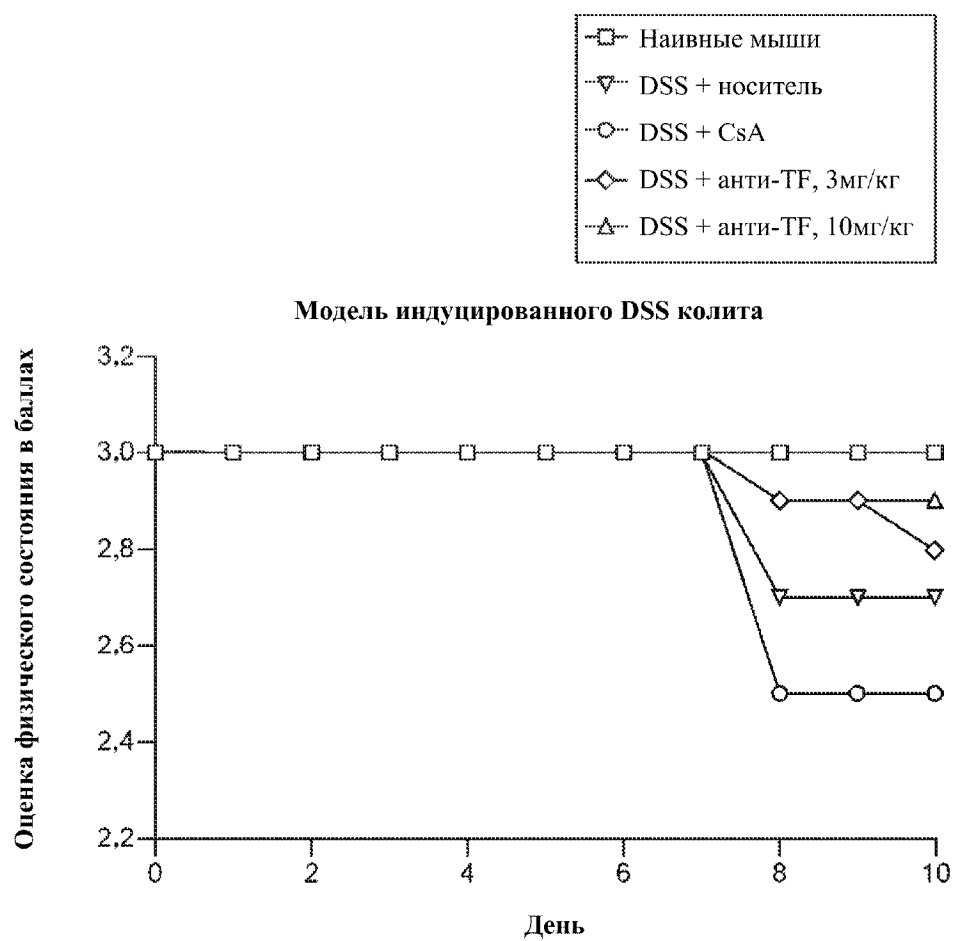
Фиг. 2



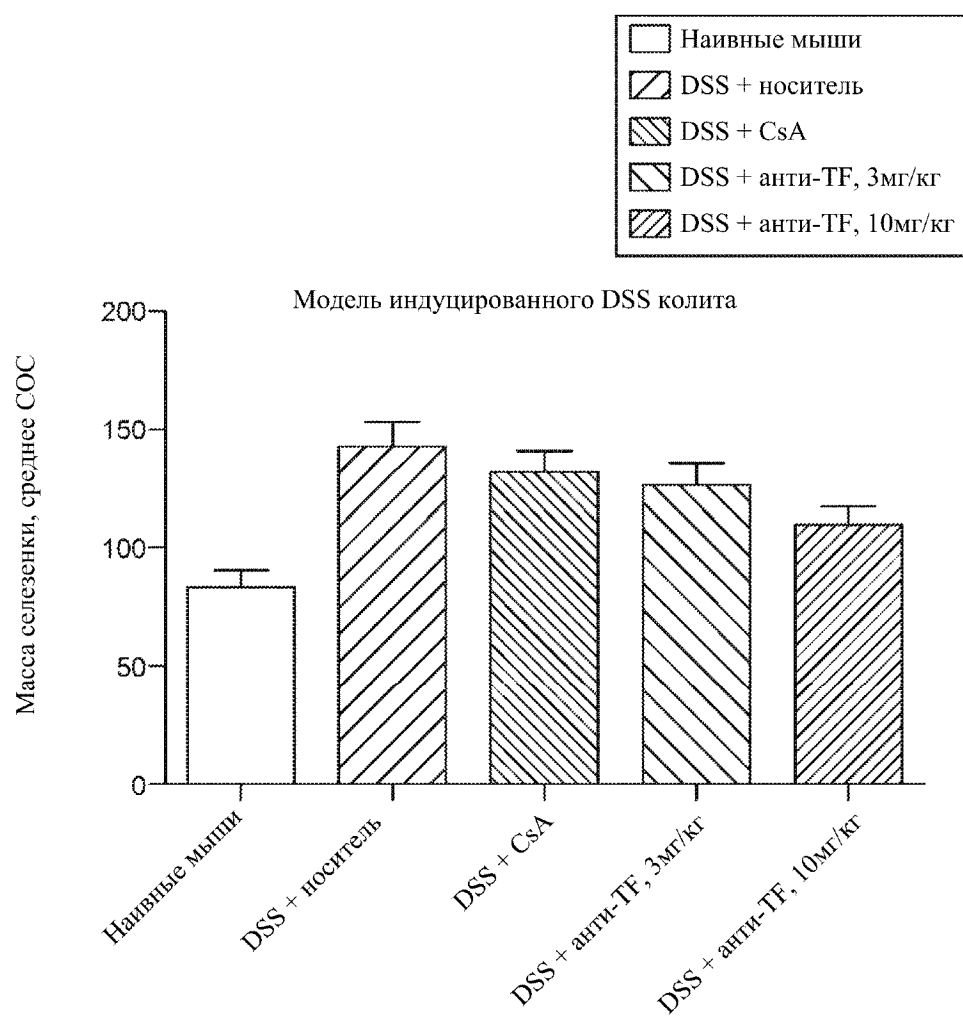
Фиг. 3



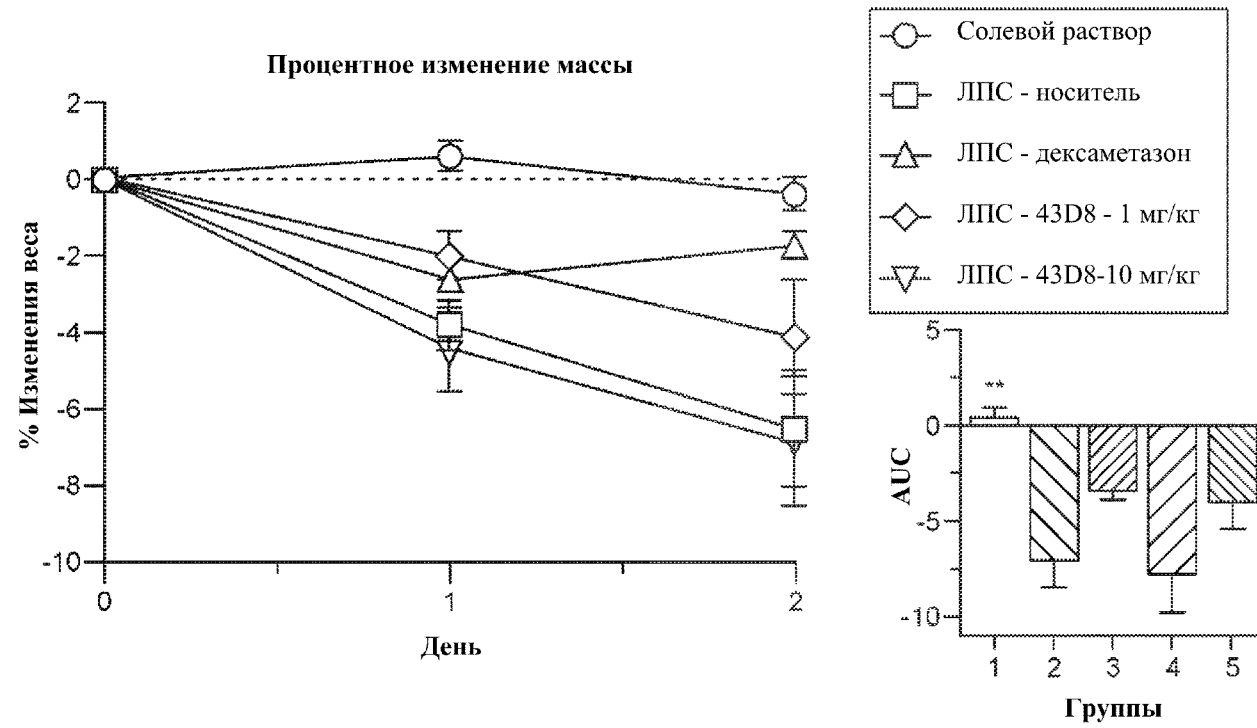
Фиг. 4



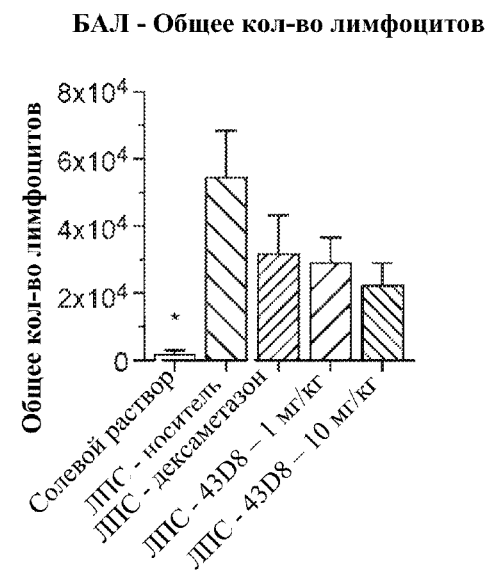
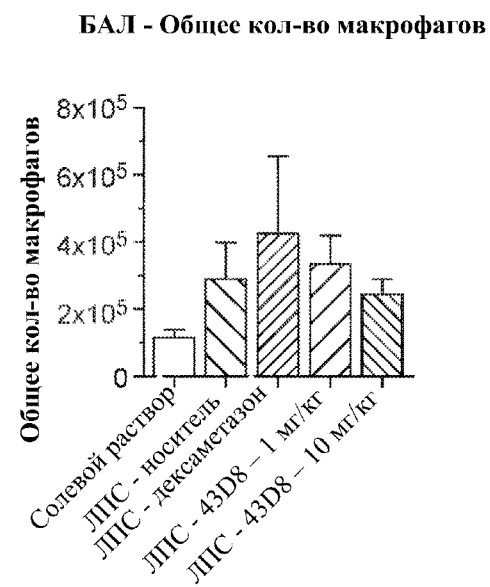
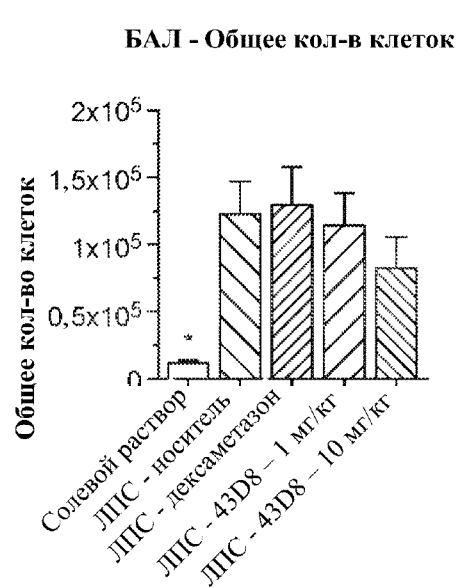
Фиг. 5



Фиг. 6

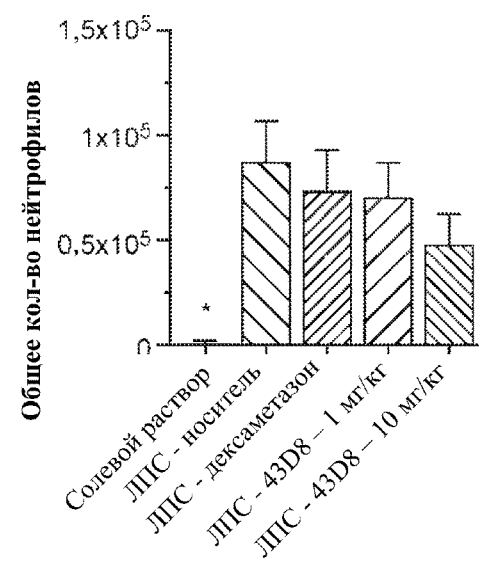


Фиг. 7

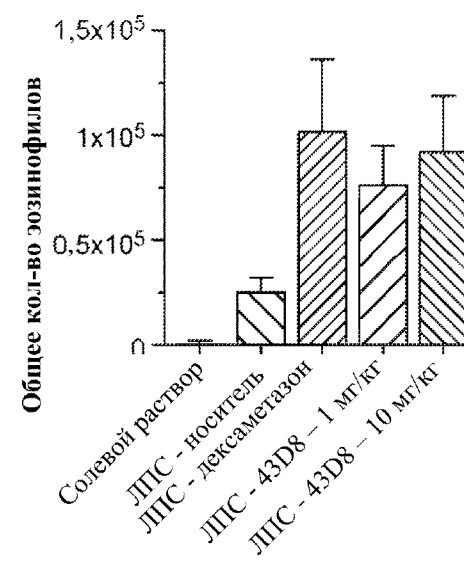


Фиг. 8А

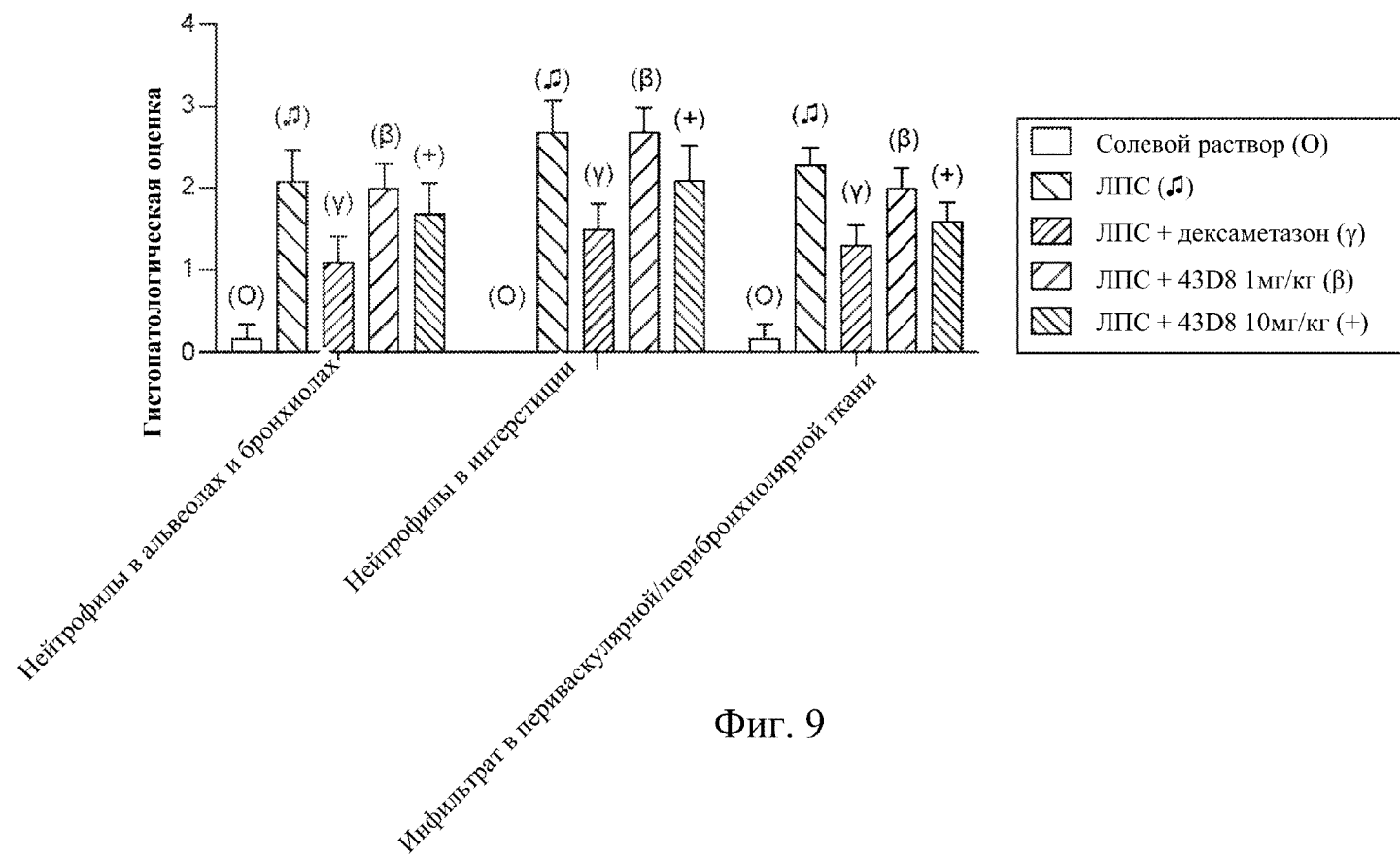
БАЛ - Общее кол-во нейтрофилов



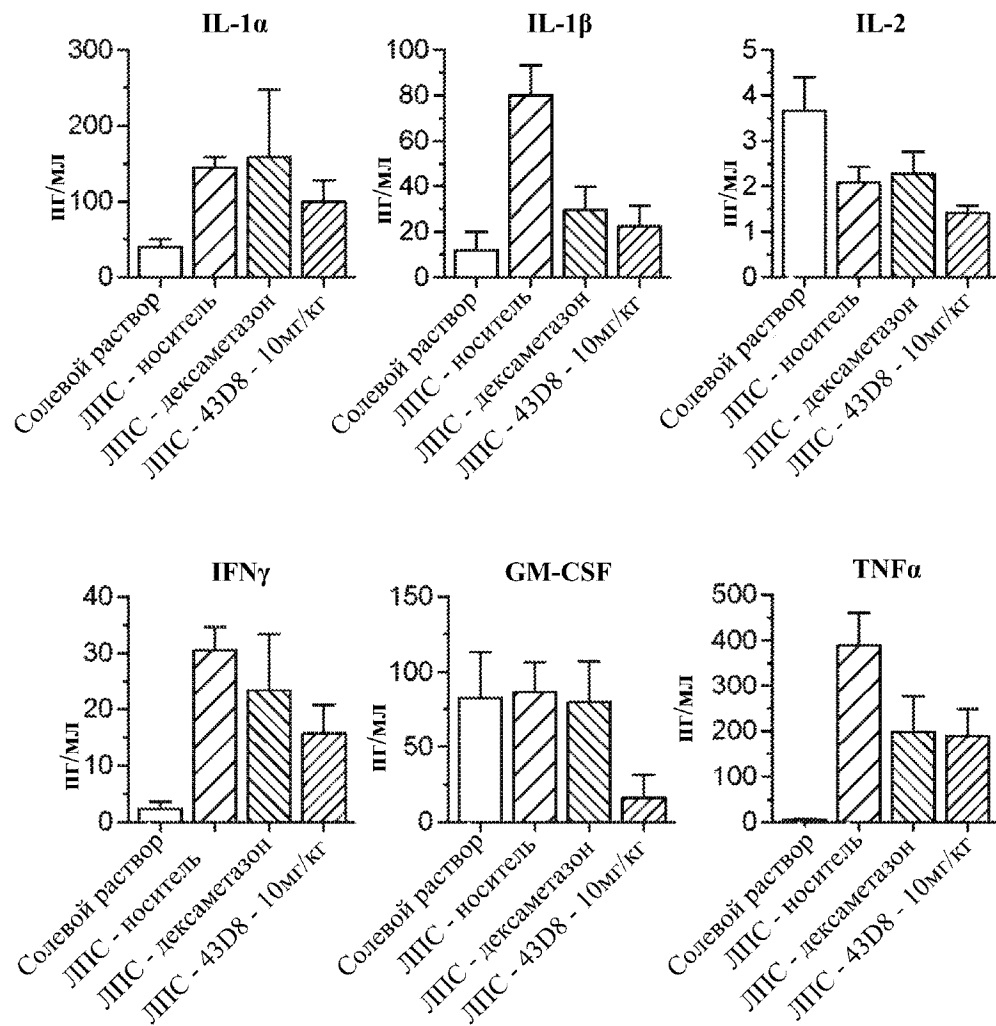
БАЛ - Общее кол-во эозинофилов



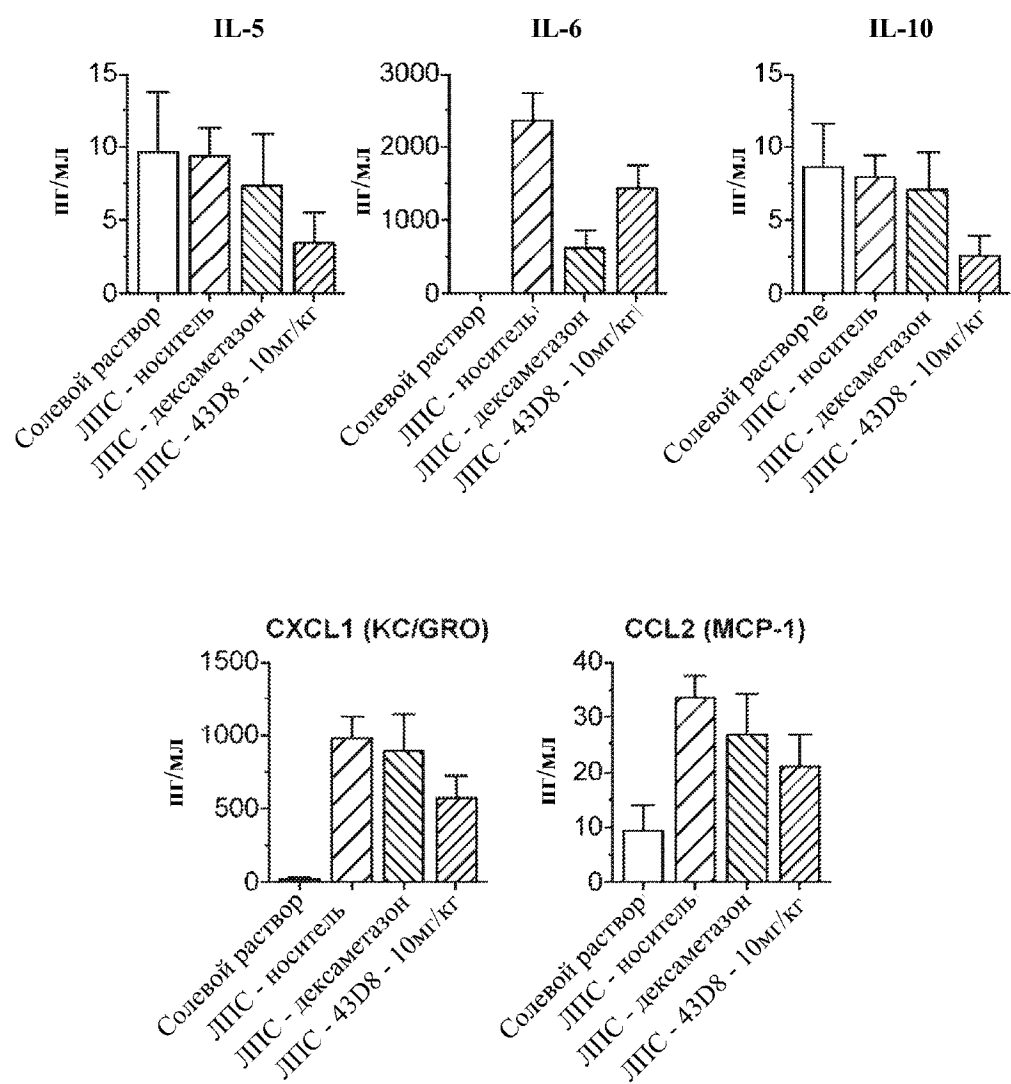
Фиг. 8В



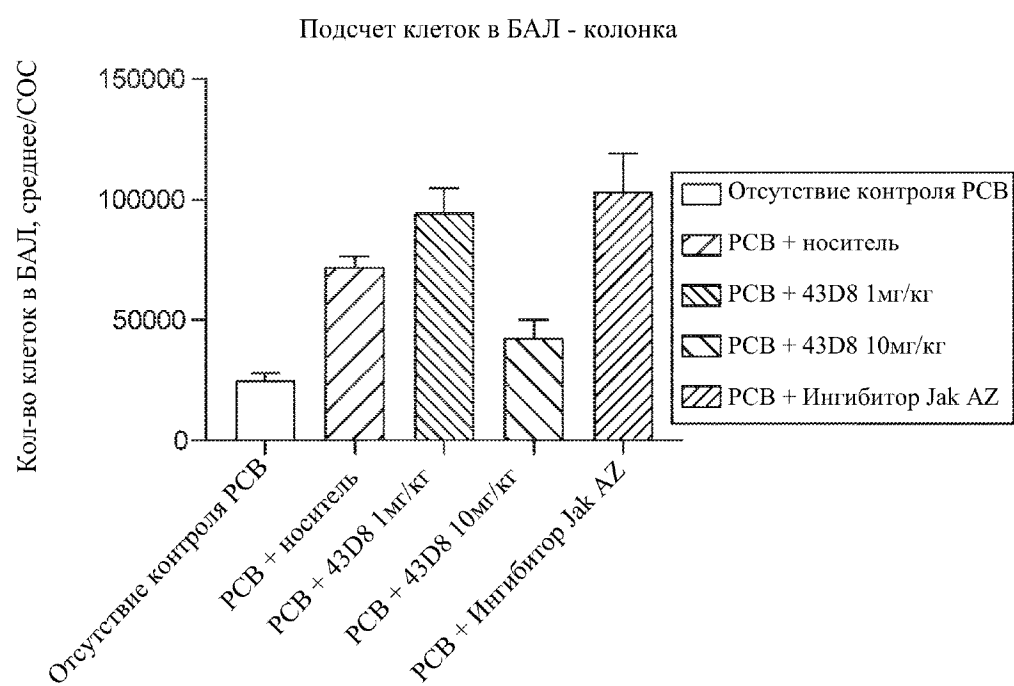
Фиг. 9



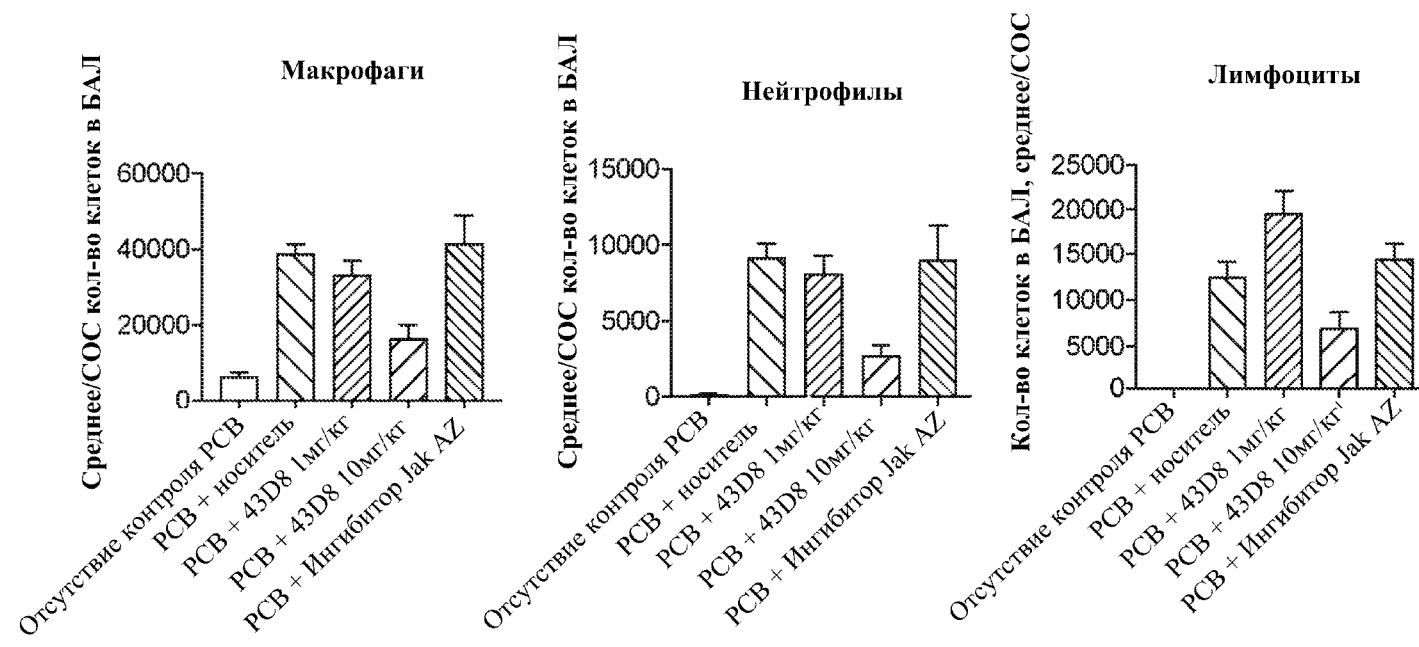
Фиг. 10А



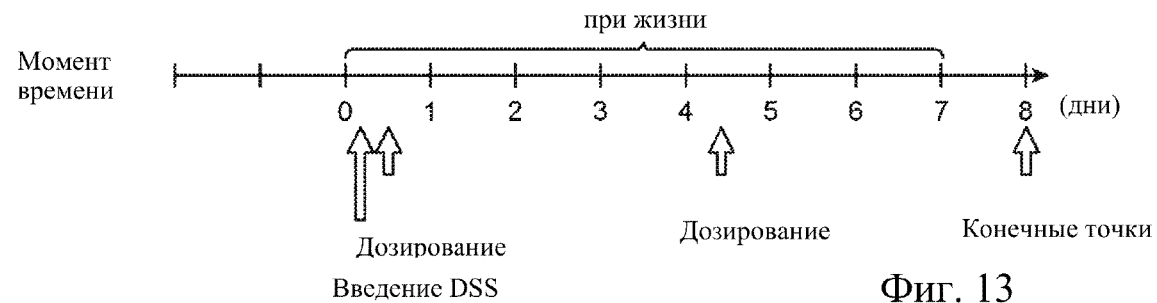
Фиг. 10В



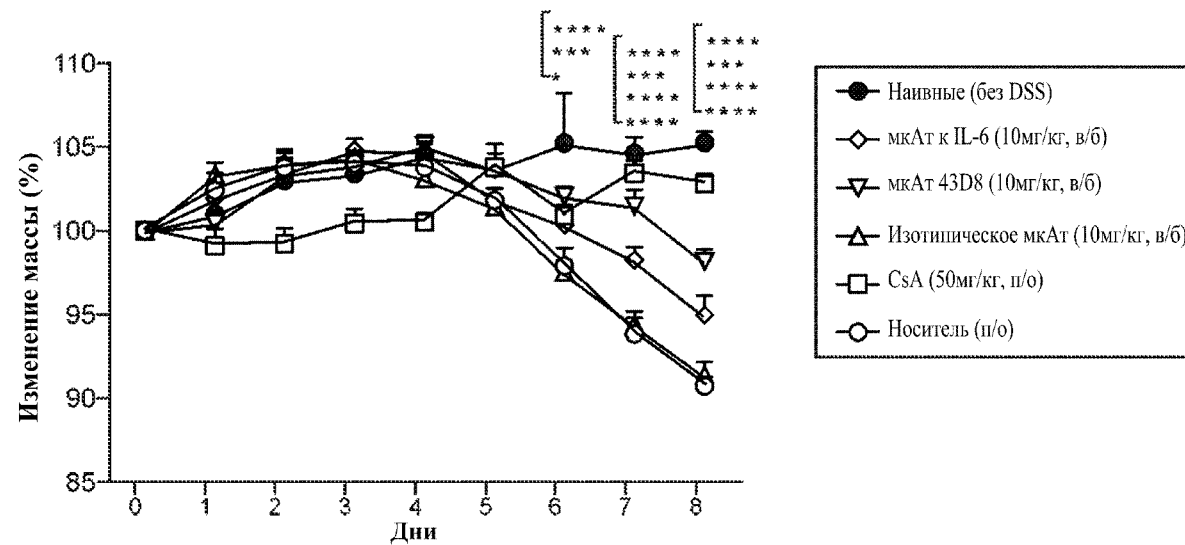
Фиг. 11



Фиг. 12

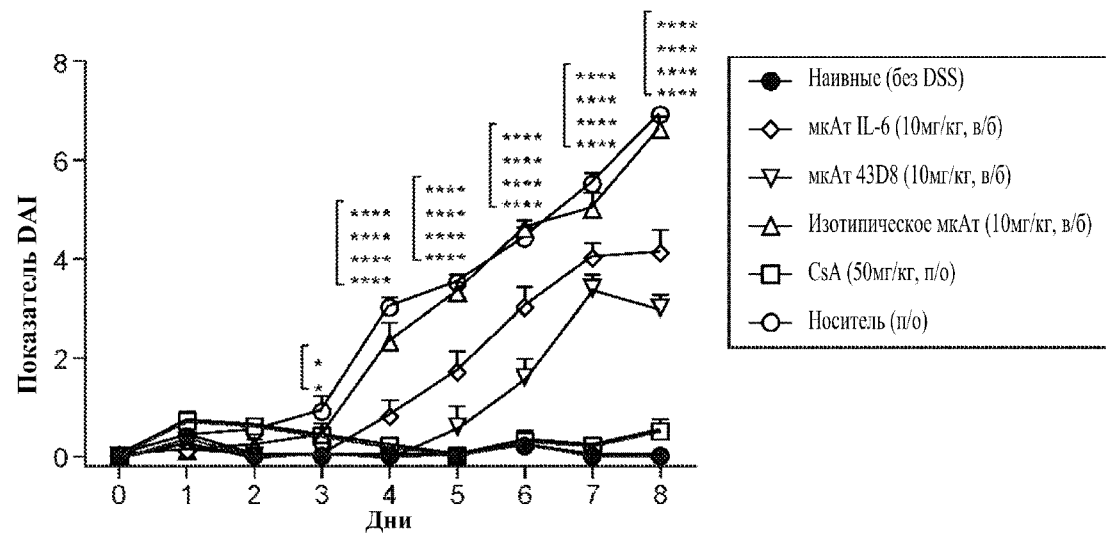


Фиг. 13



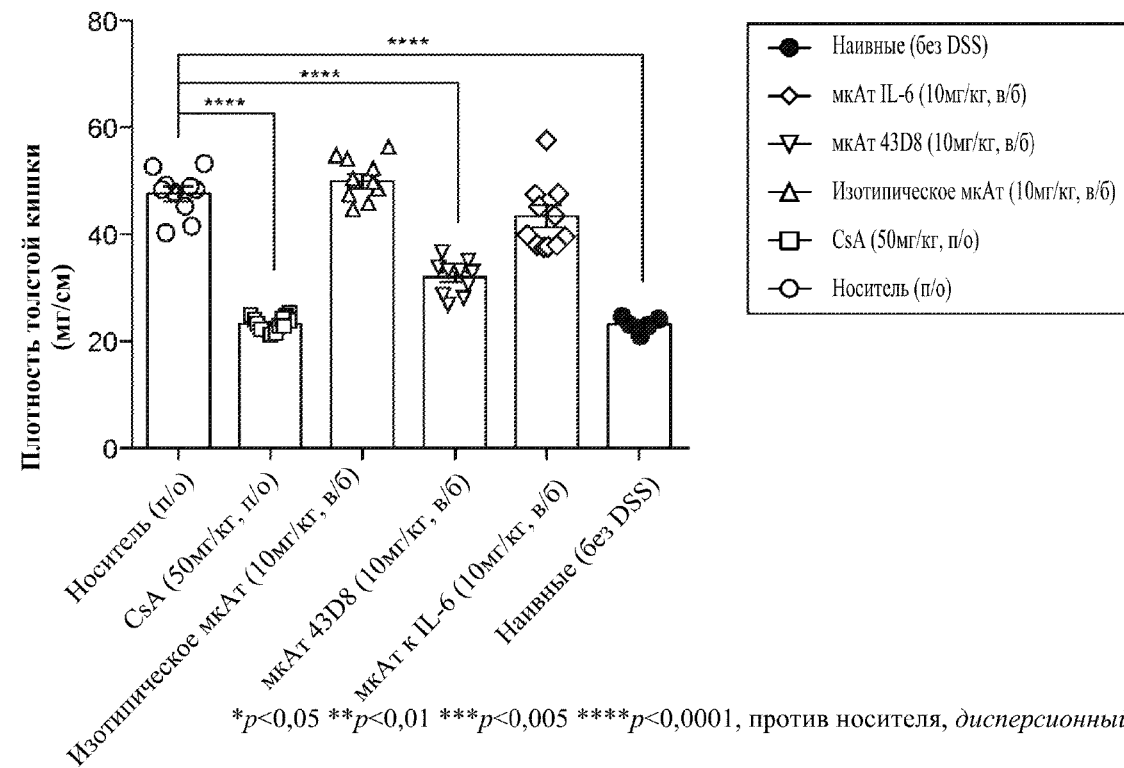
* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,005$ **** $p < 0,0001$, против носителя, дисперсионный анализ

Фиг. 14

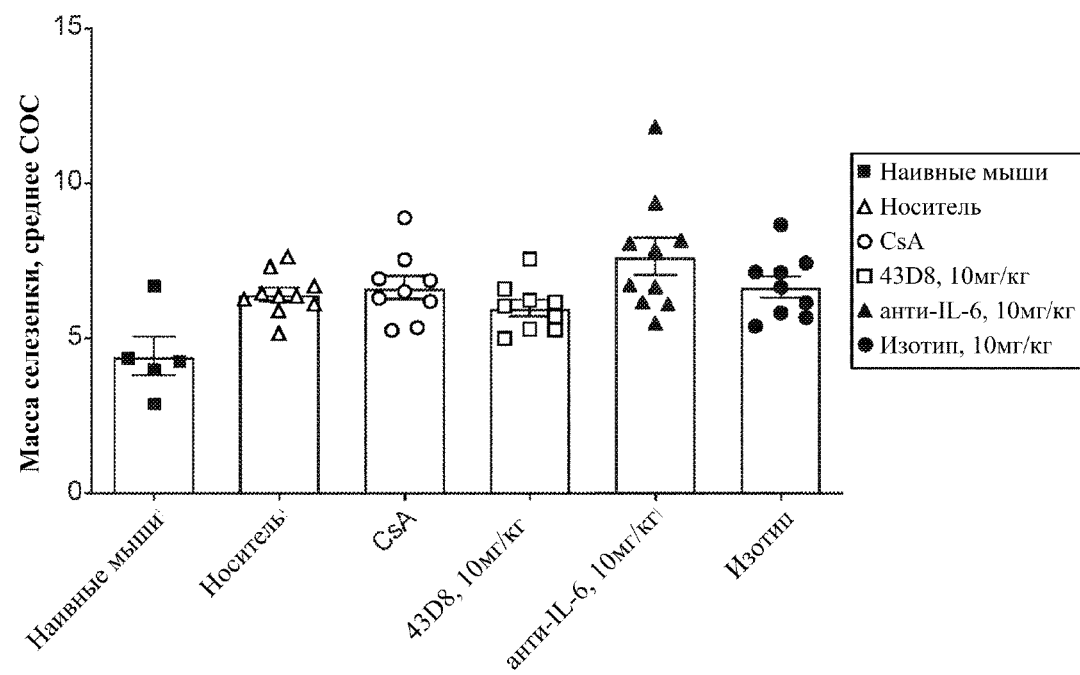


* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,005$ **** $p < 0,0001$, против носителя, дисперсионный анализ

Фиг. 15

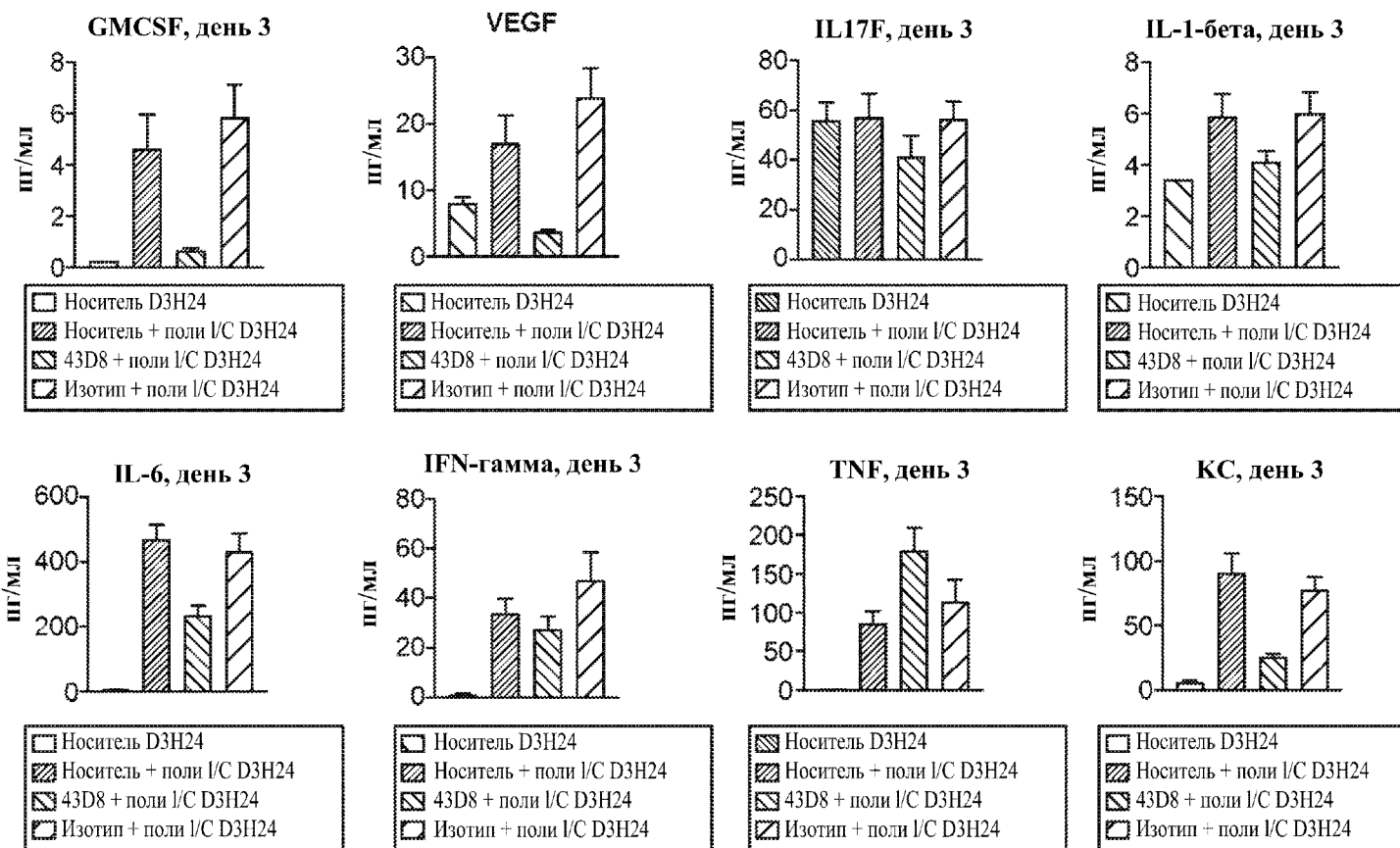


Фиг. 16

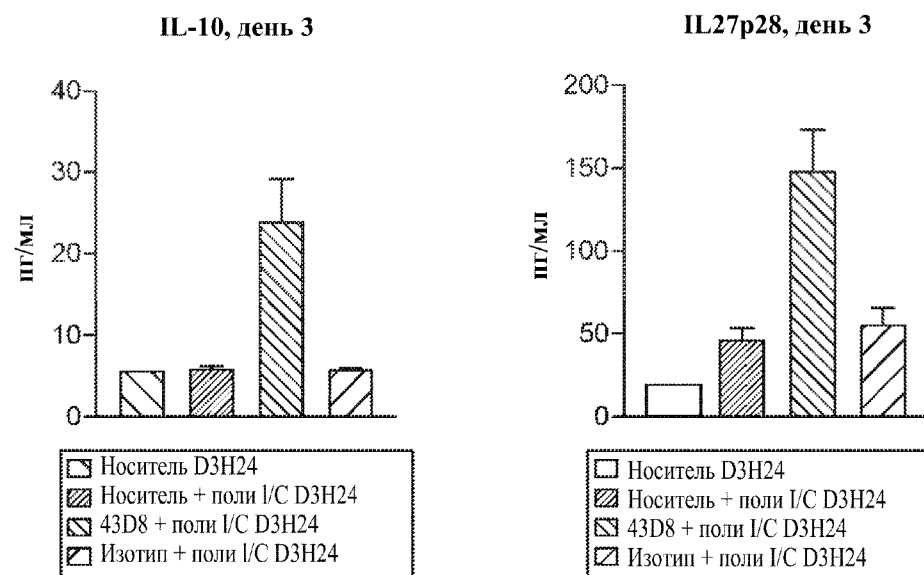


* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,005$ **** $p < 0,0001$, против носителя, дисперсионный анализ

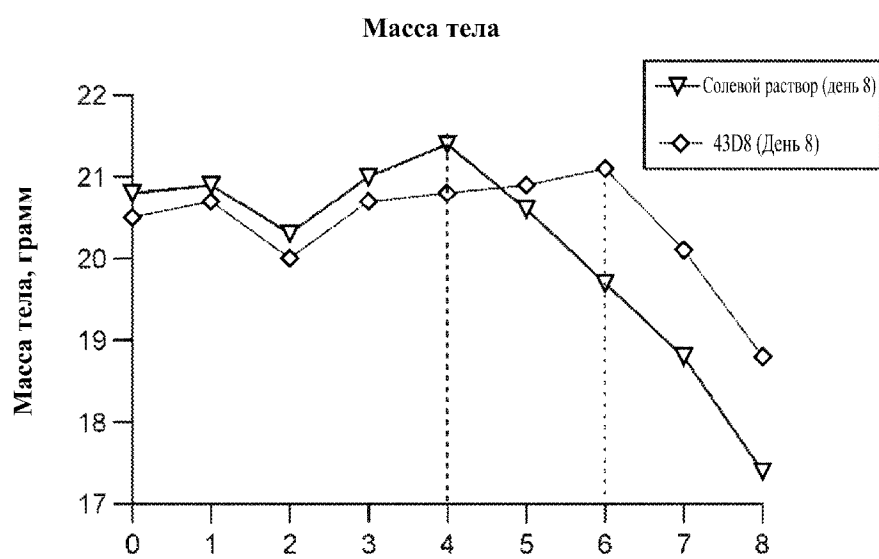
Фиг. 17



Фиг. 18А



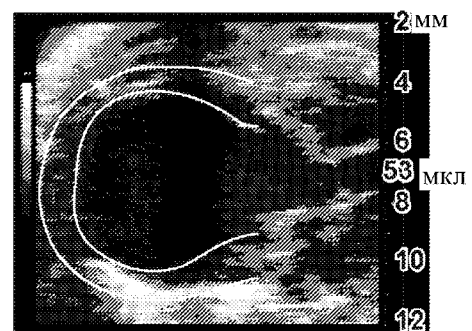
Фиг. 18В



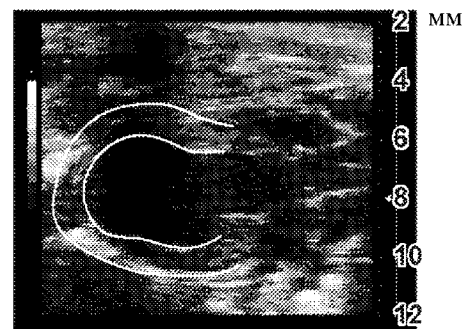
Фиг. 19

Индекс нарушения локальной сократимости миокарда
(размер инфаркта)

Контроль IgG

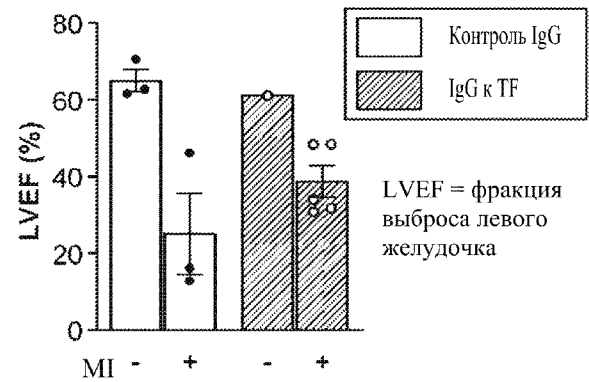


IgG к TF

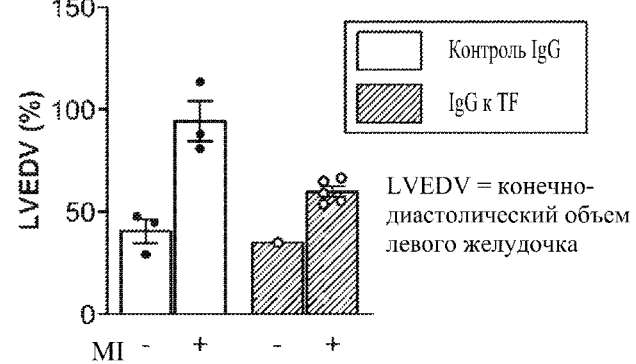


Фиг. 20

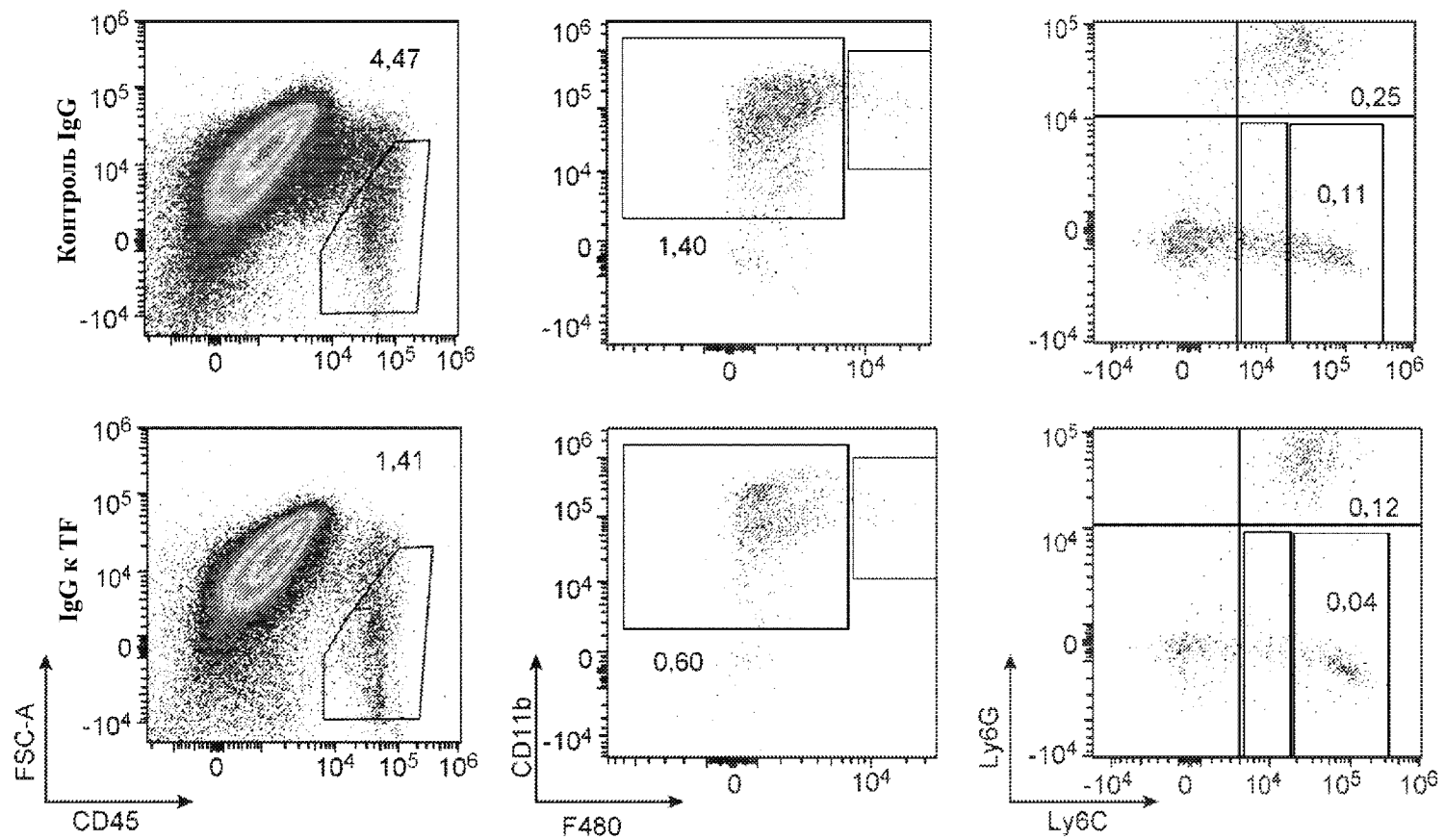
LVEF



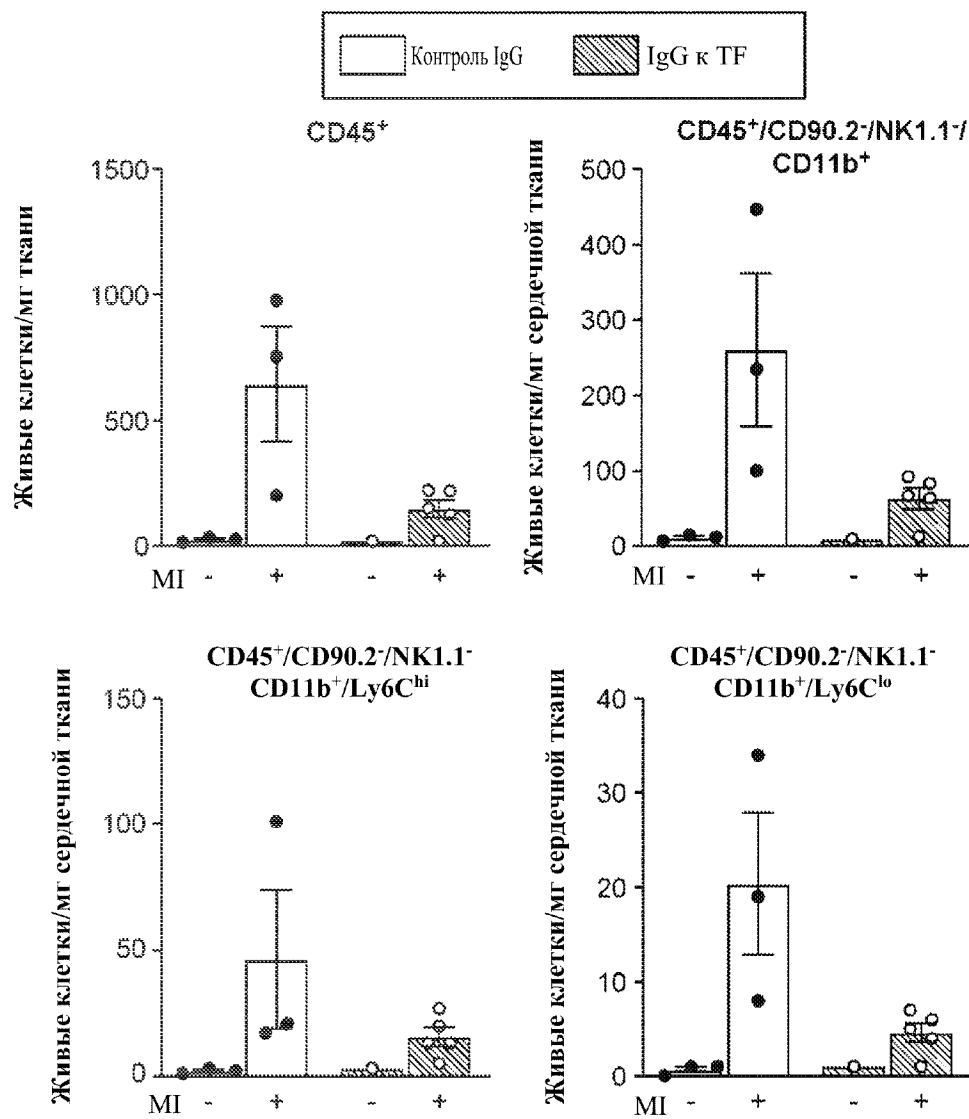
LVEDV



Фиг. 21



Фиг. 22



Фиг. 23