

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202391633 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.11.07

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.01.13

(54) ГУМАНИЗИРОВАННЫЕ АНТИТЕЛА К РЕЦЕПТОРУ КОМПОНЕНТА
КОМПЛЕМЕНТА 5a ТИПА 1 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 63/137,089; 63/274,748

(72) Изобретатель:

(32) 2021.01.13; 2021.11.02

Висванатан Картик, Бут Брайан,
Рамакришнан Бупати, Уоллакотт
Эндрю, Бэбкок Грегори, Шрайвер
Закари, Олински Лорен (US)

(33) US

(86) PCT/US2022/012317

(87) WO 2022/155340 2022.07.21

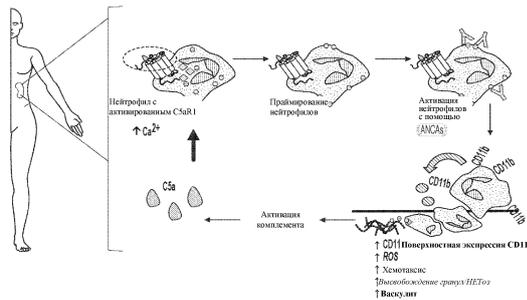
(71) Заявитель:

(74) Представитель:

ВИСТЕРРА, ИНК. (US)

Нилова М.И. (RU)

(57) Согласно настоящему изобретению предложены, среди прочего, два различных формата гуманизированных антител против человеческого рецептора компонента комплемента 5a типа 1. Согласно настоящему изобретению предложен способ лечения субъекта, имеющего дисфункции пути оси C5a/C5aR1, включая, но не ограничиваясь указанным, ANCA-связанный васкулит, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества антитела или нуклеиновой кислоты, кодирующей антитела, связывающиеся с C5aR1, описанные в настоящем документе, и характеризующийся тем, что введение приводит к уменьшению симптомов, связанных с дисфункцией, связанной с C5a/C5aR1, у указанного субъекта.



202391633

A1

A1

202391633

ГУМАНИЗИРОВАННЫЕ АНТИТЕЛА К РЕЦЕПТОРУ КОМПОНЕНТА КОМПЛЕМЕНТА 5А ТИПА 1 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США № 63/137089, поданной 13 января 2021 года, и предварительной заявке на патент США № 63/274748, поданной 2 ноября 2021 года, содержание каждой из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Раскрыты композиции и способы для снижения интенсивности аутоиммунных заболеваний и нарушений, связанных с иммунным воспалением, опосредуемым компонентом комплемента C5a/рецептором компонента комплемента 5a типа 1 C5a/C5aR1. Ось C5a-C5aR1 представляет особый интерес для терапевтического вмешательства с целью блокирования привлечения нейтрофилов к локальным очагам, ингибирования активации нейтрофилов, а также разрушения сосудов. Композиции и способы, раскрытые в настоящем документе, могут включать этап введения антагониста C5aR1, а также способы лечения субъекта, нуждающегося в таком лечении.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Согласно настоящему изобретению предложены, помимо прочего, антитела к C5aR1 с повышенной специфичностью в отношении C5aR1 и варианты применения в терапевтических целях указанных антител для эффективного лечения заболеваний или нарушений, связанных с C5 и его рецепторами, таких как АНЦА-вакулит, типичный гемолитико-уремический синдром, возрастная дегенерация желтого пятна, ревматоидный артрит, сепсис, тяжелый ожог, антифосфолипидный синдром, астма, волчаночный нефрит, синдром Гудпасчера и хроническая обструктивная болезнь легких. Как описано в настоящем документе, настоящее изобретение частично основано на идентификации гуманизированных C5aR1-специфичных антител, которые связываются с определенными областями на сайте I и/или сайте II C5aR1 и имеют значительно сниженную перекрестную реактивность с C5aR2 или любыми другими рецепторами, сопряженными с G-белком. В частности, антитела к C5aR1 согласно настоящему изобретению характеризуются высокой аффинностью связывания с C5aR1 (например, с K_D менее 50 нМ) и минимальной перекрестной реактивностью с C5aR2. Это имеет значение, поскольку антитела к C5aR1 согласно настоящему изобретению обеспечивают сильное ингибирование передачи сигналов с участием C5aR1 в присутствии высоких концентраций C5a. В результате, антитела к C5aR1 согласно настоящему изобретению можно применять в более низкой дозе

для достижения терапевтического эффекта по сравнению с другими антителами к C5aR1 или антителами к C5a. Это продемонстрировано неожиданно высокой активностью, наблюдаемой в функциональных анализах, по сравнению с антителами предыдущего уровня техники, описанными в настоящем документе. Более того, высокоактивные антитела к сайту I C5aR1 согласно настоящему изобретению конкурируют друг с другом за сайт I, и высокоактивные антитела к сайту II C5aR1 согласно настоящему изобретению конкурируют друг с другом за сайт II. Кроме того, согласно настоящему изобретению предложены способы и композиции для ингибирования передачи сигналов с участием C5aR1 и/или C5a путем нацеливания как на сайт I, так и на сайт II C5aR1. Одновременное нацеливание на сайт I и сайт II может значительно повысить ингибирующую активность. Например, комбинация антител или биспецифичных антител (например, бипаратопных) к сайту I и к сайту II, но не двух антител к сайту II или двух антител к сайту I, значительно повышает активность. Изобретательские антитела к C5aR1 согласно настоящему изобретению могут обеспечить более эффективное лечение опосредуемых комплементом заболеваний и нарушений, в частности, АНЦА-вакулита.

[0004] Кроме того, согласно настоящему изобретению предложены, помимо прочего, антитела к C5aR1 содержащие варианты Fc, которые имеют значительно сниженную функцию АЗКЦ, АЗКФ и КЗЦ. Как описано в настоящем документе, антитела к C5aR1 согласно настоящему изобретению содержат новые комбинации мутаций, которые устраняют связывание со всеми FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa, FcγRIIIb и C1q, и сохраняют свою способность связываться с FcRn.

[0005] Согласно некоторым вариантам реализации антитела к C5aR1, предложенные в настоящем документе, имеют домен Fc IgG4 дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации антитела к C5aR1, предложенные в настоящем документе, имеют модифицированный домен Fc IgG4. Согласно некоторым вариантам реализации модифицированные антитела к C5aR1 содержат мутацию, предотвращающую обмен плечами Fab. Согласно некоторым вариантам реализации модифицированные антитела к C5aR1 дополнительно содержат мутации сайленсинга Fc.

[0006] Ось C5a-C5aR1 представляет особый интерес для терапевтического вмешательства с целью блокирования привлечения нейтрофилов к локальным очагам, ингибирования активации нейтрофилов, а также разрушения сосудов. Композиции и способы, раскрытые в настоящем документе, могут включать этап введения антагониста C5aR1, а также способы лечения субъекта, нуждающегося в таком лечении.

[0007] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывающийся с по меньшей мере одной из

последовательностей C5aR1, включающих последовательности SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 3.

[0008] Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с SEQ ID NO: 1 C5aR1. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с SEQ ID NO: 2 C5aR1. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с SEQ ID NO: 3 C5aR1.

[0009] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащий вариабельную область тяжелой цепи (VH), причем указанная VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14.

[00010] Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 78% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 82% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 88% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 92% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 93% идентична аминокислотной

последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 98% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14.

[00011] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащий вариабельную область легкой цепи (VL), причем указанная VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25.

[00012] Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 78% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 82% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 88% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по

меньшей мере на 92% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 93% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 98% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25.

[00013] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий область VH, причем указанная VH содержит три определяющих комплементарность участка тяжелой цепи (HCDR), при этом указанные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3 содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 6 (NYWMH), 7 (YLNPSGGYTKYAQKFQG) и 8 (SGGDNYGNPYYFDR), соответственно.

[00014] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий область VL, причем указанная VL содержит три определяющих комплементарность участка легкой цепи (LCDR), при этом указанные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3 имеют SEQ ID NO: 9 (RASQSIVHSNGNTYLH), 10 (KVSNRFS) и 11 (AQYTLVPLT), соответственно.

[00015] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий область VH, причем указанная VH содержит три определяющих комплементарность участка тяжелой цепи (HCDR), при этом указанные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3 содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 6 (NYWMH), 7 (YLNPSGGYTKYAQKFQG) и 8 (SGGDNYGNPYYFDR), соответственно, и область VL, причем указанная VL содержит три определяющих комплементарность участка легкой цепи (LCDR), причем указанные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3 имеют SEQ ID NO: 9 (RASQSIVHSNGNTYLH), 10 (KVSNRFS) и 11 (AQYTLVPLT), соответственно.

[00016] Согласно одному варианту реализации антитело или антитело или его антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению дополнительно содержит область Fc.

[00017] Согласно одному варианту реализации антитело или антитело или его антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению дополнительно содержит область Fc, причем указанный домен Fc независимо выбран из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

[00018] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывающийся с C5aR1, ингибирует взаимодействие компонента комплемента 5a (C5a) с C5aR1.

[00019] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывается с C5aR2 или любым другим GPCR.

[00020] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является гуманизированным.

[00021] Согласно одному варианту реализации VH или VL антитела или его антигенсвязывающего фрагмента модифицирована для повышения стабильности молекулы.

[00022] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит сериновую или тирозиновую мутацию в положении 96 из SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 25.

[00023] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не реагирует перекрестно с мышинным C5aR1.

[00024] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает C5aR1 с аффинностью от 10 пМ до 50 нМ.

[00025] Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает C5aR1 с константой диссоциации (K_D) менее примерно 100 нМ. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает C5aR1 с константой диссоциации (K_D) менее примерно 90 нМ. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает C5aR1 с константой диссоциации (K_D) менее примерно 80 нМ. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает C5aR1 с константой диссоциации (K_D) менее примерно 75 нМ. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает C5aR1 с константой диссоциации (K_D) менее примерно 70 нМ. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его

[00029] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывающийся с C5aR1, ингибирует передачу сигналов с участием кальция.

[00030] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывающийся с C5aR1, ингибирует экспрессию CD11b.

[00031] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывающийся с C5aR1, ингибирует нейтропению.

[00032] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывающийся с C5aR1, ингибирует передачу сигналов с участием β -аррестина.

[00033] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывающийся с C5aR1, ингибирует продуцирование активных форм кислорода (АФК) в нейтрофилах.

[00034] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 4°C до 1 недели с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 1-15°C до 1 недели с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 2-10°C до 1 недели с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 3-8°C до 2 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания.

[00035] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 4°C до 2 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 1-15°C до 2 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 2-10°C до 2 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 3-8°C до 2 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания.

[00036] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 4°C до 4 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 1-15°C до 4 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 2-10°C до 4 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 3-8°C до 4 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания.

[00037] Согласно одному варианту реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 4°C до 8 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 1-15°C до 8 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 2-10°C до 8 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 3-8°C до 8 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания.

[00038] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает нуклеиновую кислоту, кодирующую любое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе.

[00039] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает клетку, содержащую нуклеиновую кислоту, кодирующую любое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанный в настоящем документе.

[00040] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает способ получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе, причем указанный способ включает; культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, культивирование клетки в условиях, которые обеспечивают продуцирование антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

[00041] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает способ лечения аутоиммунных заболеваний с применением антитела или его антигенсвязывающего

фрагмента, причем указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает рецептор компонента комплемента 5а типа 1 (C5aR1), указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), при этом указанная VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14, и/или антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает рецептор компонента комплемента 5а типа 1 (C5aR1) человека, содержащего вариабельную область легкой цепи (VL), причем указанная VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25.

[00042] Согласно одному варианту реализации способ лечения аутоиммунных заболеваний включает применение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, причем указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает рецептор компонента комплемента 5а типа 1 (C5aR1) человека, указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), при этом указанная VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14, и антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает рецептор компонента комплемента 5а типа 1 (C5aR1) человека, содержащего вариабельную область легкой цепи (VL), при этом указанная VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15.

[00043] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает способ лечения аутоиммунных заболеваний с применением антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, причем указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает рецептор компонента комплемента 5а типа 1 (C5aR1), указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три определяющих комплементарность участка тяжелой цепи (HCDR), при этом указанные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3 содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 6 (NYWMH), 7 (YLNPSGTYTKYAQKFQG) и 8 (SGGDNYGNPYYFDR), соответственно, и три определяющих комплементарность участка легкой цепи (LCDR), при этом указанные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3 содержат SEQ ID NO: 9 (RASQSIVHSNGNTYLH), 10 (KVSNRFS) и 11 (AQYTLVPLT), соответственно.

[00044] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает способ лечения аутоиммунных заболеваний с применением антитела или его антигенсвязывающего

идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 98% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5. Согласно некоторым вариантам реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4.

[00048] Согласно одному варианту реализации настоящее изобретение включает заболевание, вызванное нейтропенией, вызванной применением антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе.

[00049] Согласно одному варианту реализации нейтропения вызвана высокими уровнями C5a.

[00050] Согласно одному варианту реализации заболевание представляет собой АНЦА- васкулит или волчанку.

[00051] Согласно одному варианту реализации нарушение представляет собой ревматоидный артрит.

[00052] Согласно одному варианту реализации нарушение представляет собой нарушение функции почек.

[00053] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает способ ингибирования передачи сигналов с участием C5a с применением моноклонального антитела (МАТ), которое связывается с C5aR1, содержащего переменную область тяжелой цепи (VH), причем указанная VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14, и переменную область легкой цепи (VL), причем указанная VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25.

[00054] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий две пары антигенсвязывающих доменов, причем первый антигенсвязывающий домен содержит VH1 и VL1, при этом указанные VH1 и VL1 связывают C5aR1 в SEQ ID NO: 3, и причем второй антигенсвязывающий домен содержит VH2 и VL2, при этом указанные VH2 и VL2 связывают C5aR1 в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

[00055] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий две пары антигенсвязывающих доменов, причем антигенсвязывающий домен содержит VH1 и VL1, при этом указанные VH1 и VL1 связывают C5aR1 в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2, и причем второй антигенсвязывающий домен содержит VH2 и VL2, при этом указанные VH2 и VL2 связывают C5aR1 в SEQ ID NO: 3.

[00056] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH1, содержащую SEQ ID NO: 14, или по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 14.

[00057] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VL, причем указанная VL1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 или по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации VL1 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации VL1 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 78% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации VL1 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации VL1 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 82% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации VL1 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 84% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации VL1 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации VL1 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 86% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации VL1 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 88% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации VL1 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации VL1 содержит аминокислотную последовательность, которая по

идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам реализации VL2 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 86% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам реализации VL2 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 88% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам реализации VL2 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам реализации VL2 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 92% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам реализации VL2 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 94% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам реализации VL2 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам реализации VL2 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 96% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам реализации VL2 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам реализации VL2 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 98% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам реализации VL2 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17.

[00060] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывающийся с SEQ ID NO: 3, который содержит тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 12 или по меньшей мере на 85% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12. Согласно некоторым вариантам реализации тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 75% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12. Согласно некоторым вариантам реализации тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 78% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12. Согласно некоторым вариантам реализации тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12.

SEQ ID NO: 12 или по меньшей мере на 85% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, и легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 13 или по меньшей мере на 85% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13. Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 12 или по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, и легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 13 или по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13. Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 12 или по меньшей мере на 92% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, и легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 13 или по меньшей мере на 92% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13. Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 12 или по меньшей мере на 95% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, и легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 13 или по меньшей мере на 95% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13. Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 12 или по меньшей мере на 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, и легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 13 или по меньшей мере на 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13.

[00063] Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложено, помимо прочего, бипаратопное антитело к C5aR1, содержащее тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 71, и легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 72. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело к C5aR1 содержит тяжелую цепь, которая по меньшей мере на 85% идентична SEQ ID NO: 71. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело к C5aR1 содержит тяжелую цепь, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 71. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело к C5aR1 содержит тяжелую цепь, которая по меньшей мере на 92% идентична SEQ ID NO: 71. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело к C5aR1 содержит тяжелую цепь, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 71. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело к C5aR1 содержит тяжелую цепь, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 71. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело к C5aR1 содержит тяжелую цепь,

Согласно некоторым вариантам реализации антитело к C5aR1 содержит легкую цепь, которая по меньшей мере на 92% идентична SEQ ID NO: 70. Согласно некоторым вариантам реализации антитело к C5aR1 содержит легкую цепь, которая по меньшей мере на 85% идентична SEQ ID NO: 70. Согласно некоторым вариантам реализации антитело к C5aR1 содержит легкую цепь, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 70. Согласно некоторым вариантам реализации антитело к C5aR1 содержит легкую цепь, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 70. Согласно некоторым вариантам реализации антитело к C5aR1 содержит легкую цепь, которая по меньшей мере на 98% идентична SEQ ID NO: 70. Согласно некоторым вариантам реализации антитело к C5aR1 содержит легкую цепь, которая по меньшей мере на 99% идентична SEQ ID NO: 70.

[00065] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, причем указанная тяжелая цепь содержит VH1, связанную с доменом Fc.

[00066] Согласно одному варианту реализации домен Fc бипаратопного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента дополнительно связан с scFv, содержащим VH2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16, и/или VL2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17.

[00067] Согласно одному варианту реализации домен Fc независимо выбран из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

[00068] Согласно одному варианту реализации scFv связан с доменом Fc линкером.

[00069] Согласно одному варианту реализации линкер содержит по меньшей мере 5 аминокислот, содержащих аминокислотную последовательность с любой из SEQ ID NO: 26-37. Согласно одному варианту реализации линкер содержит по меньшей мере 3 аминокислоты, содержащие аминокислотную последовательность с любой из SEQ ID NO: 26-37. Согласно одному варианту реализации линкер содержит по меньшей мере 4 аминокислоты, содержащие аминокислотную последовательность с любой из SEQ ID NO: 26-37. Согласно одному варианту реализации линкер содержит по меньшей мере 6 аминокислот, содержащих аминокислотную последовательность с любой из SEQ ID NO: 26-37. Согласно одному варианту реализации линкер содержит по меньшей мере 7 аминокислот, содержащих аминокислотную последовательность с любой из SEQ ID NO: 26-37.

- [00070] Согласно одному варианту реализации VH2 и VL2 бипаратопного антитела, содержащие SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17, связаны друг с другом линкером.
- [00071] Согласно одному варианту реализации линкер содержит 1-10 повторов SEQ ID NO: 31.
- [00072] Согласно одному варианту реализации VH2 и VL2 бипаратопного антитела, содержащие SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17 или аминокислотную последовательность, которая на 90% идентична SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17, дополнительно содержат одну или более мутаций для улучшения термической стабильности бипаратопного антитела.
- [00073] Согласно одному варианту реализации бипаратопного антитела мутация для улучшения термической стабильности бипаратопного антитела предусматривает включение цистеина в положении 559 из SEQ ID NO: 12 и в положении 630 из SEQ ID NO: 12.
- [00074] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывающийся с C5aR1, ингибирует взаимодействие компонента комплемента 5a (C5a) с человеческим C5aR1.
- [00075] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывается с C5aR2.
- [00076] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело является гуманизированным.
- [00077] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело не реагирует перекрестно с мышинным C5aR1.
- [00078] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело является стабильным при 4°C до 2 недель с одним циклом замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 1-15°C до 2 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 2-10°C до 2 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является стабильным при примерно 3-8°C до 2 недель с одним или более циклами замораживания-оттаивания.
- [00079] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует хемотаксис нейтрофилов.

[00080] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует хемотаксис нейтрофилов в присутствии высокой концентрации C5a.

[00081] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует хемотаксис нейтрофилов в присутствии концентрации C5a, составляющей по меньшей мере 10 нМ.

[00082] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует опосредуемую C5a передачу сигналов с участием C5aR1 *Gα*.

[00083] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует передачу сигналов с участием β-аррестина.

[00084] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует продуцирование АФК в нейтрофилах.

[00085] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует передачу сигналов с участием кальция.

[00086] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует экспрессию CD11b.

[00087] Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует нейтропению.

[00088] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает нуклеиновую кислоту, кодирующую бипаратопное антитело, описанное в настоящем документе.

[00089] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает клетку, содержащую нуклеиновую кислоту, кодирующую бипаратопное антитело, описанное в настоящем документе.

[00090] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает способ получения бипаратопного антитела, описанного в настоящем документе, причем указанный способ включает культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, культивирование клетки в условиях, которые обеспечивают продуцирование антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

[00091] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает способ лечения аутоиммунных заболеваний с применением бипаратопного антитела, причем указанное антитело связывает человеческий рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащего: первую VH и первую VL, VH1 и VL1, причем указанная VH1 содержит SEQ ID NO: 14 или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%

идентична SEQ ID NO: 14, и причем указанная VL1 содержит SEQ ID NO: 15 или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 15, и вторую VH и вторую VL, VH2 и VL2, причем указанная VH2 содержит SEQ ID NO: 16 или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 16, и указанная VL2 содержит SEQ ID NO: 17 или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 17.

[00092] Согласно одному варианту реализации настоящее изобретение включает способ лечения аутоиммунного заболевания, причем указанное аутоиммунное заболевание вызвано нейтропенией, с применением антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе.

[00093] Согласно одному варианту реализации нейтропения вызвана высокими уровнями C5a.

[00094] Согласно одному варианту реализации заболевание представляет собой АНЦА-васкулит или волчанку.

[00095] Согласно одному варианту реализации нарушение представляет собой ревматоидный артрит.

[00096] Согласно одному варианту реализации нарушение представляет собой нарушение функции почек.

[00097] Согласно одному варианту реализации нарушение представляет собой инсульт.

[00098] Согласно одному варианту реализации предложено моноспецифичное или бипаратопное антитело к C5aR1 согласно любому из предшествующих вариантов реализации, причем указанное антитело содержит модифицированные константные домены IgG1, IgG4 или IgG2.

[00099] Согласно одному варианту реализации антитело к C5aR1 содержит модифицированный домен Fc IgG4.

[000100] Согласно одному варианту реализации модифицированный домен Fc IgG4 содержит замены в положениях F234, L235 и/или D265.

[000101] Согласно одному варианту реализации замена Fc IgG4 в положении F234 представляет собой гидрофобную аминокислоту, выбранную из аланина, валина, лейцина, изолейцина, фенилаланина или триптофана.

[000102] Согласно одному варианту реализации замена Fc IgG4 в положении F234 представляет собой валин.

[000103] Согласно одному варианту реализации замена Fc IgG4 в положении L235 представляет собой кислую аминокислоту.

- [000104] Согласно одному варианту реализации замена Fc IgG4 в положении L235 представляет собой кислую аминокислоту, выбранную из глутамата или аспартата.
- [000105] Согласно одному варианту реализации замена Fc IgG4 в положении L235 представляет собой аспартат.
- [000106] Согласно одному варианту реализации замена Fc IgG4 в положении D265 представляет собой неполярную аминокислоту.
- [000107] Согласно одному варианту реализации замена Fc IgG4 в положении D265 представляет собой неполярную аминокислоту, выбранную из аланина, цистеина, глицина, изолейцина, лейцина, метионина и валина.
- [000108] Согласно одному варианту реализации замена Fc IgG4 в положении D265 представляет собой глицин.
- [000109] Согласно одному варианту реализации антитело согласно любому из предыдущих вариантов реализации дополнительно содержит замену в S228.
- [000110] Согласно одному варианту реализации замена в S228 представляет собой пролин.
- [000111] Согласно одному варианту реализации предложено моноспецифичное или бипаратопное антитело к C5aR1 согласно любому из предыдущих вариантов реализации, причем указанное антитело содержит модифицированный константный домен IgG4, содержащий комбинацию замен F234V, L235E и D265G.
- [000112] Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения предложен способ снижения или предотвращения антителозависимой цитотоксичности, антителозависимого фагоцитоза и/или комплементзависимой цитотоксичности с применением моноспецифичного или бипаратопного антитела к C5aR1 согласно любому из предыдущих вариантов реализации.
- [000113] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащий: переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 14; переменную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 25; и модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G.
- [000114] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащий: переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую HCDR1, имеющий SEQ ID NO: 6 (NYWMH), HCDR2, имеющий SEQ ID NO: 7 (YLNPSGGYTKYAQKFQG), и HCDR3, имеющий SEQ ID NO: 8 (SGGDNYGNPYYFDR); переменную область легкой цепи (VL), содержащую LCDR1, имеющий SEQ ID NO: 9

(RASQSIVHSNGNTYLH), LCDR2, имеющий SEQ ID NO: 10 (KVSNRFS), и LCDR3, имеющий SEQ ID NO: 11 (AQYTLVPLT); и модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G.

[000115] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащий тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 69, и легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 70.

[000116] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a (C5aR1), содержащий: легкую цепь, содержащую LCDR1, имеющий SEQ ID NO: 9 (RASQSIVHSNGNTYLH), LCDR2, имеющий SEQ ID NO: 10 (KVSNRFS), и LCDR3, имеющий SEQ ID NO: 21 (AQSTLVPLT); и тяжелую цепь, содержащую: HCDR1, имеющий SEQ ID NO: 6 (NYWMH), HCDR2, имеющий SEQ ID NO: 7 (YLNPSGTYTKYAQKFQG), и HCDR3, имеющий SEQ ID NO: 8 (SGGDNYGNPYYFDR); модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G; и scFv, содержащий LCDR4, имеющий SEQ ID NO: 22 (RSSQSLVHSNGNTYLN), LCDR5, имеющий SEQ ID NO: 23 (KVSNRSL), LCDR6, имеющий SEQ ID NO: 24 (SQSTHVPYT), HCDR4, имеющий SEQ ID NO: 18 (AYAMS), HCDR5, имеющий SEQ ID NO: 19 (SISTGGNTYYADSVKG), и HCDR6, имеющий SEQ ID NO: 20 (GYQRFSGFAY), при этом указанный scFv связан с модифицированным доменом Fc.

[000117] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a (C5aR1), содержащий: первую переменную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 15; первую переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 14; модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G; и scFv, содержащий вторую переменную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 17, и вторую переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 16, причем указанный scFv связан с указанным модифицированным доменом Fc.

[000118] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a (C5aR1), содержащий легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 72, и тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 71.

[000119] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a (C5aR1), содержащий: первую переменную область легкой цепи (VL),

имеющую SEQ ID NO: 25; первую переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 14; и scFv, содержащий вторую переменную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 17, и вторую переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 16, при этом указанный scFv связан с доменом Fc. Согласно одному варианту реализации бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G, таким образом, что scFv связан с модифицированным доменом Fc.

[000120] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащий: переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 43; и переменную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 48. Согласно одному варианту реализации антитело дополнительно содержит модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G.

[000121] Согласно одному аспекту настоящее изобретение включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащий: переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 14; и переменную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 15. Согласно одному варианту реализации антитело дополнительно содержит модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

[000122] **ФИГ. 1** представляет собой примерную схематическую диаграмму, показывающую патогенез АНЦА-вакулита.

[000123] **ФИГ. 2** представляет собой примерную схематическую диаграмму двух видов антител, описанных в настоящем изобретении.

[000124] **ФИГ. 3А** представляет собой примерную схематическую диаграмму примерного бипаратопного антитела, содержащего scFv, связанный с доменом Fc тяжелой цепи Fab, описанного в настоящем документе. **ФИГ. 3В** представляет собой схематическую диаграмму примерного бипаратопного антитела, содержащего scFv, связанный с легкой цепью Fab, описанного в настоящем документе.

[000125] **ФИГ. 4А** представляет собой примерный график, показывающий связывание примерного гуманизованного антитела к сайту II (c2139) и примерного бипаратопного антитела (c2137-e1711) с C5aR1 с применением ИФА, как описано в настоящем изобретении. **ФИГ. 4В** представляет собой примерный график, показывающий связывание различных серий примерного антитела к сайту II (c2139) и примерного бипаратопного антитела (c2137-e1711) в клетках U937-C5aR1. **ФИГ. 4С** представляет собой график,

показывающий связывание различных серий примерного антитела к сайту II (с2139) и примерного бипаратопного антитела (с2137-е1711) в человеческих нейтрофилах.

[000126] **ФИГ. 5** представляет собой примерный график, показывающий связывание примерного гуманизированного антитела к сайту II (с2139) и бипаратопного антитела (с2137-е1711) с C5aR2 с применением ИФА, как описано в настоящем изобретении.

[000127] **ФИГ. 6А** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование передачи сигналов с участием G-альфа с использованием анализа GeneBLAzer с применением примерного гуманизированного антитела к сайту II, с2139, и примерного бипаратопного антитела к C5aR1, с2137-е1711, как описано в настоящем изобретении, в присутствии 10 нМ C5a. Авакопан показан в качестве положительного контроля. **ФИГ. 6В** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование передачи сигналов с участием G-альфа с использованием анализа GeneBLAzer с применением примерного гуманизированного антитела к сайту II, с2139, и примерного бипаратопного антитела к C5aR1, с2137-е1711, как описано в настоящем изобретении, в присутствии 100 нМ C5a. Авакопан показан в качестве положительного контроля. **ФИГ. 6С** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование передачи сигналов с участием G-альфа с использованием анализа GeneBLAzer с применением примерного гуманизированного антитела к сайту II, с2139, и примерного бипаратопного антитела к C5aR1, с2137-е1711, как описано в настоящем изобретении, в присутствии 10 нМ C5a. Контрольное антитело к C5aR1 показано в качестве положительного контроля. **ФИГ. 6D** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование передачи сигналов с участием G-альфа с использованием анализа GeneBLAzer с применением примерного гуманизированного антитела к сайту II, с2139, и примерного бипаратопного антитела к C5aR1, с2137-е1711, как описано в настоящем изобретении, в присутствии 100 нМ C5a. Контрольное антитело к C5aR1 показано в качестве положительного контроля.

[000128] **ФИГ. 7А** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование передачи сигналов с участием кальция с применением примерного гуманизированного антитела к сайту II, описанного в настоящем изобретении, в присутствии повышающихся концентраций C5a и повышающихся концентраций антитела. **ФИГ. 7В** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование передачи сигналов с участием кальция с применением примерного гуманизированного бипаратопного антитела, описанного в настоящем изобретении, в присутствии повышающихся концентраций C5a и повышающихся концентраций антитела. **ФИГ. 7С** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование передачи сигналов с участием кальция с применением авакопана, известного ингибитора C5aR1, описанного в

настоящем изобретении, в присутствии повышающихся концентраций C5a и повышающихся концентраций антитела.

[000129] ФИГ. 8А представляет собой примерный график, показывающий ингибирование хемотаксиса нейтрофилов с применением примерного гуманизированного антитела к сайту II, с2139, описанного в настоящем изобретении, в присутствии повышающихся концентраций C5a и повышающихся концентраций антитела. **ФИГ. 8В** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование хемотаксиса нейтрофилов с применением гуманизированного бипаратопного антитела, с2137-e1711, описанного в настоящем изобретении, в присутствии повышающихся концентраций C5a и повышающихся концентраций антитела. **ФИГ. 8С** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование хемотаксиса нейтрофилов с применением авакопана, известного ингибитора C5aR1, описанного в настоящем изобретении, в присутствии повышающихся концентраций C5a и повышающихся концентраций антитела.

[000130] ФИГ. 9А представляет собой примерный график, показывающий ингибирование экспрессии CD11b в нейтрофилах с помощью примерного гуманизированного антитела к сайту II, с2139, и примерного бипаратопного антитела, с2137-e1711, описанных в настоящем документе, по сравнению с авакопаном и в присутствии 100 нМ C5a и повышающихся концентраций антитела. **ФИГ. 9В** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование экспрессии CD11b в нейтрофилах с помощью примерного гуманизированного антитела к сайту II, с2139, и примерного бипаратопного антитела, с2137-e1711, описанных в настоящем документе, по сравнению с авакопаном и в присутствии 10 нМ примерного гуманизированного антитела к сайту II и примерного бипаратопного антитела и повышающихся концентраций C5a. **ФИГ. 9С** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование экспрессии CD11b в нейтрофилах с помощью примерного гуманизированного антитела к сайту II, с2139, и примерного бипаратопного антитела, с2137-e1711, описанных в настоящем документе, по сравнению с 10 нМ и 100 нМ контрольного антитела к C5aR1 и в присутствии 10 нМ примерного гуманизированного антитела к сайту II и примерного бипаратопного антитела и повышающихся концентраций C5a.

[000131] ФИГ. 10А представляет собой примерный график, показывающий ингибирование привлечения бета-аррестина в присутствии примерных гуманизированных антител к C5aR1 с2139 и с2137-e1711, каждое в дозе 1 нМ, по сравнению с 10 нМ авакопана, в присутствии 1 нМ C5a. **ФИГ. 10В** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование привлечения бета-аррестина в присутствии примерных гуманизированных антител к C5aR1 с2139 и с2137-e1711, каждое в дозе 1 нМ, по сравнению с 10 нМ авакопана,

в присутствии 10 нМ C5a. **ФИГ. 10С** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование привлечения бета-аррестина в присутствии примерных гуманизированных антител к C5aR1 с2139 и с2137-e1711, каждое в дозе 1 нМ, по сравнению с 10 нМ авакопана, в присутствии 100 нМ C5a.

[000132] **ФИГ. 11** представляет собой примерный график, показывающий ингибирование передачи сигналов с участием АФК в АНЦА(-) и АНЦА (+) клетках при сравнении с2139, с2137-e1711, мотавизумаба и авакопана.

[000133] **ФИГ. 12А** представляет собой примерный график, показывающий интернализацию 10 нМ примерных гуманизированных антител к C5aR1 через 0, 6 и 12 часов в клетках C5aR1-U937, визуализированную с помощью антител, конъюгированных посредством аминов с рН-чувствительным флуоресцентным красителем. **ФИГ. 12В** представляет собой примерный график, показывающий интернализацию 10 нМ примерных гуманизированных антител к C5aR1 через 0, 6 и 12 часов в клетках U937, визуализированную с помощью антител, конъюгированных посредством аминов с рН-чувствительным флуоресцентным красителем. **ФИГ. 12С** представляет собой примерный график, показывающий интернализацию 100 нМ примерных гуманизированных антител к C5aR1 через 0, 6 и 12 часов в клетках C5aR1-U937, визуализированную с помощью антител, конъюгированных посредством аминов с рН-чувствительным флуоресцентным красителем. **ФИГ. 12D** представляет собой примерный график, показывающий интернализацию 100 нМ примерных гуманизированных антител к C5aR1 через 0, 6 и 12 часов в клетках U937, визуализированную с помощью антител, конъюгированных посредством аминов с рН-чувствительным флуоресцентным красителем.

[000134] **ФИГ. 13А** представляет собой примерный график, показывающий связывание (перекрестную реактивность) примерных гуманизированных антител к C5aR1 с белком беличьих обезьян. **ФИГ. 13В** представляет собой примерный график, показывающий связывание (перекрестную реактивность) примерных гуманизированных антител C5aR1 с белком собак.

[000135] **ФИГ. 14А** представляет собой примерную схематическую диаграмму дизайна исследования у беличьих обезьян, показывающую время забора крови и введения дозы. **ФИГ. 14В** представляет собой примерный точечный график процентного изменения количества нейтрофилов относительно исходного уровня в носителе для примерного гуманизированного антитела к сайту II и авакопана. **ФИГ. 14С** представляет собой столбиковый график процентного изменения количества нейтрофилов относительно исходного уровня в носителе для примерного гуманизированного антитела к сайту II и авакопана.

[000136] **ФИГ. 15А** представляет собой примерную схематическую диаграмму дизайна исследования у мышей, трансгенных по hC5aR1, показывающую время забора крови и введения дозы. **ФИГ. 15В** представляет собой примерный точечный график процентного изменения количества нейтрофилов относительно исходного уровня в носителе для гуманизированного антитела к сайту II и авакопана. **ФИГ. 15С** представляет собой примерный столбиковый график процентного изменения количества нейтрофилов относительно исходного уровня в носителе для гуманизированного антитела к сайту II и авакопана.

[000137] **ФИГ. 16А** представляет собой примерный график, показывающий 21-дневные профили ФК примерного четырехвалентного (бипаратопного антитела) и моноспецифичного антител. **ФИГ. 16В** представляет собой примерный график, показывающий 500-часовой профиль ФК мотавизумаба в сыворотке крови мышей. **ФИГ. 16С** представляет собой примерный график, показывающий 500-часовой профиль ФК c2139 в сыворотке крови мышей. **ФИГ. 16D** представляет собой примерный график, показывающий 500-часовой профиль ФК c2137-e1711 в сыворотке крови мышей.

[000138] **ФИГ. 17А** представляет собой примерный график, показывающий кривые аффинности моноспецифичного антитела к C5aR1 (c2139-F_cmod) и бипаратопного антитела к C5aR1 (c2137-e1711-F_cmod). **ФИГ. 17В** представляет собой примерный график, показывающий кинетические параметры бипаратопного антитела к C5aR1 (c2137-e1711-F_cmod). **ФИГ. 17С** представляет собой примерный график, показывающий связывание моноспецифичного антитела к C5aR1 (c2139-F_cmod) и бипаратопного антитела к C5aR1 (c2137-e1711-F_cmod) с C5aR2.

[000139] **ФИГ. 18А-18В** демонстрируют усиление интернализации антител к C5aR1. **ФИГ. 18А** представляет собой примерный график, показывающий интернализацию через несколько часов после диссоциации моноспецифичного антитела, c2139. **ФИГ. 18В** представляет собой примерный график, показывающий усиление интернализации бипаратопного антитела, c2137-e1711, во время ассоциации.

[000140] **ФИГ. 19А-19В** иллюстрирует ингибирование передачи сигналов с участием G α в присутствии F_c-модифицированных антител к C5aR1. **ФИГ. 19А** показывает передачу сигналов с участием G α в присутствии F_c-модифицированных антител к C5aR1 в присутствии 10 нМ C5a. **ФИГ. 19В** показывает передачу сигналов с участием G α в присутствии F_c-модифицированных антител к C5aR1 в присутствии 100 нМ C5a.

[000141] **ФИГ. 20А-20В** представляет собой примерную серию графиков, иллюстрирующих ингибирование передачи сигналов с участием кальция в присутствии F_c-модифицированных антител к C5aR1, c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod, по сравнению с

авакопаном и контрольным антителом к C5aR1 в клетках U937-C5aR1. **ФИГ. 20А** представляет собой примерный график, показывающий кривую зависимости ответа от дозы, отражающий ингибирование передачи сигналов с участием кальция с применением примерного Fc-модифицированного гуманизированного антитела к сайту II, описанного в настоящем изобретении, в присутствии повышающихся концентраций антитела и 100 нМ C5a. **ФИГ. 20В** представляет собой график процента ингибирования, показывающий ингибирование передачи сигналов с участием кальция с применением примерного Fc-модифицированного гуманизированного антитела к сайту II, описанного в настоящем изобретении, в присутствии антитела и 100 нМ C5a.

[000142] **ФИГ. 21А-21D** показывают ингибирование передачи сигналов с участием кальция в клетках U937-C5aR1 по сравнению с человеческими нейтрофилами. **ФИГ. 21А** показывает ингибирование передачи сигналов с участием кальция в клетках U937-C5aR1 в присутствии 10 нМ C5a. **ФИГ. 21В** показывает ингибирование передачи сигналов с участием кальция в клетках U937-C5aR1 в присутствии 100 нМ C5a. **ФИГ. 21С** показывает ингибирование передачи сигналов с участием кальция в человеческих нейтрофилах в присутствии 10 нМ C5a. **ФИГ. 21D** показывает ингибирование передачи сигналов с участием кальция в человеческих нейтрофилах в присутствии 100 нМ C5a.

[000143] **ФИГ. 22А** обобщает процент насыщения и F_{norm} клеток U937-C5aR1, инкубированных с повышающимися концентрациями антитела (c2139-F_cmod и c2137-e1711-F_cmod) и 100 нМ C5a, после 1 часа инкубации. **ФИГ. 22В** обобщает процент насыщения и F_{norm} клеток U937-C5aR1, инкубированных с повышающимися концентрациями антитела (c2139-F_cmod и c2137-e1711-F_cmod) и 100 нМ C5a, после 3 часов инкубации.

[000144] **ФИГ. 23А-23В** показывают ингибирование C5a-опосредуемой передачи сигналов с участием β -аррестина с помощью c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod. **ФИГ. 23А** показывает зависимость ингибиторного ответа от дозы c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod для передачи сигналов с участием β -аррестина. **ФИГ. 23В** показывает процент ингибирования передачи сигналов с участием β -аррестина с помощью c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod.

[000145] **ФИГ. 24А-24D** показывают ингибирование хемотаксиса в стабильных клетках C5aR1-U937 после обработки антителами к C5aR1, c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod, по сравнению с авакопаном и контрольным антителом к C5aR1. **ФИГ. 24А** показывает ингибирование хемотаксиса в стабильных клетках C5aR1-U937 в присутствии 1 нМ, 3,16 нМ и 10 нМ c2139-F_cmod и повышающейся концентрации C5a. **ФИГ. 24В** показывает ингибирование хемотаксиса в стабильных клетках C5aR1-U937 в присутствии

1 нМ, 3,16 нМ и 10 нМ C5a c2137-e1711-F_cmod и повышающейся концентрации C5a. **ФИГ. 24С-24D** показывает ингибирование хемотаксиса в стабильных клетках C5aR1-U937 в присутствии 1 нМ, 3,16 нМ и 10 нМ контрольного антитела к C5aR1 и авакопана, соответственно, в присутствии c2137-e1711-F_cmod.

[000146] **ФИГ. 25А-25В** показывают ингибирование передачи сигналов с участием CD11b в ответ на обработку c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod. **ФИГ. 25А** показывает ингибирование передачи сигналов с участием CD11b в присутствии повышающейся концентрации антагонистического антитела к C5aR1 и 10 нМ C5a. **ФИГ. 25В** показывает ингибирование передачи сигналов с участием CD11b в присутствии повышающейся концентрации антагонистического антитела к C5aR1 и 100 нМ C5a.

[000147] **ФИГ. 26А-26В** показывают ингибирование передачи сигналов с участием АФК в АНЦА(-) и АНЦА (+) клетках при сравнении c2139-F_cmod, c2137-e1711-F_cmod, мотавизумаба и авакопана. **ФИГ. 26А** показывает ингибирование продуцирования АФК повышающейся концентрацией моноспецифичного антитела к C5aR1. **ФИГ. 26В** показывает ингибирование продуцирования АФК повышающейся концентрацией бипаратопного антитела к C5aR1.

[000148] **ФИГ. 27А** представляет собой примерную схематическую диаграмму дизайна исследования у мышей, трансгенных по hC5aR1, показывающую время забора крови и введения дозы. **ФИГ. 27В** представляет собой примерный точечный график процентного изменения количества нейтрофилов относительно исходного уровня в носителе, c2139, c2139-F_cmod, c2137-e1711 и c2137-e1711-F_cmod. **ФИГ. 27С** представляет собой примерный столбиковый график процентного изменения количества нейтрофилов относительно исходного уровня в носителе, c2139, c2139-F_cmod, c2137-e1711 и c2137-e1711-F_cmod.

[000149] **ФИГ. 28А** представляет собой иллюстративное представление размера инфаркта в головном мозге мышей после лечения указанными дозами F_c-модифицированных антител по сравнению с 1 мг/кг РМХ53. **ФИГ. 28В** представляет собой графическое представление размера инфаркта в головном мозге мышей после лечения указанными дозами F_c-модифицированных антител по сравнению с 1 мг/кг РМХ53.

[000150] **ФИГ. 29А-29В** представляют собой графические представления фармакокинетики F_c-модифицированных антител. **ФИГ. 29А** представляет собой графическое представление процента F_c-модифицированных антител к C5aR1 в сыворотке крови в течение 500 часов. **ФИГ. 29В** представляет собой графическое представление средней концентрации в мкг антитела/мл в сыворотке крови в течение 500 часов.

[000151] **ФИГ. 30А-30F** представляют собой графические представления исследований ФК и ФДФс-модифицированных антител к С5аR1 по сравнению с MVZ-IgG4. **ФИГ. 30А** представляет собой графическое представление кривой зависимости ответа от дозы с2139-F_cmod в сыворотке крови в течение 200 часов. **ФИГ. 30В** представляет собой графическое представление кривой зависимости ответа от дозы с2137-e1711-F_cmod в сыворотке крови в течение 200 часов. **ФИГ. 30С** представляет собой сравнение с2139-F_cmod, с2137-e1711-F_cmod и MVZ-IgG4. **ФИГ. 30D** представляет собой *in silico* графическое представление с2139 в трех различных концентрациях в течение периода в 500 часов. **ФИГ. 30Е** представляет собой *in silico* графическое представление с2137-e1711 в трех различных концентрациях в течение периода в 500 часов. **ФИГ. 30F** представляет собой *in silico* графическое представление изотипического контрольного антитела в течение периода в 500 часов при концентрации 20 мг/кг.

[000152] **ФИГ. 31** представляет собой графическое представление процентного изменения количества нейтрофилов для примерных антител к С5аR1 с2139-F_cmod и с2137-e1711-F_cmod при различных дозировках у мышей, трансгенных по человеческому С5аR1.

[000153] **ФИГ. 32А-32В** представляют собой графические представления интернализации примерных антител к С5аR1, с2139-F_cmod и с2137-e1711-F_cmod. **ФИГ. 32А** показывает интенсивность флуоресценции с2139-F_cmod и с2137-e1711-F_cmod в течение 0, 6 ч и 24 ч в клетках U937. **ФИГ. 32В** показывает интернализацию как с2137-e1711-F_cmod, так и с2139-F_cmod в живых клетках, наблюдаемую в эксперименте с использованием конфокального микроскопа Nikon в течение периода в 300 мин.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[000154] *Антитело*: В настоящем документе термин «антитело» относится к молекулам иммуноглобулина и иммунологически активным частям молекул иммуноглобулина (Ig), т. е. к молекулам, которые содержат антигенсвязывающий сайт, который связывает (иммунно реагирует с ним) антиген. Под «связывает» или «иммунно реагирует с» подразумевается, что антитело вступает в реакцию с одной или более желаемыми антигенными детерминантами. Антитела включают фрагменты антител. Антитела также включают, но не ограничиваются перечисленными, поликлональные, моноклональные, химерные dAb (доменное антитело), одноцепочечные, фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂, scFv и библиотеки экспрессии Fab. Антитело может представлять собой целое антитело или иммуноглобулин, или фрагмент антитела.

[000155] *Антителозависимая цитотоксичность*: В настоящем документе термин «антителозависимая цитотоксичность» или «АЗКЦ» относится к лизису клеток-мишеней

человека с помощью антитела в соответствии с настоящим изобретением в присутствии эффекторных клеток.

[000156] *Обмен плечами Fab*: Термин «обмен плечами Fab» относится к явлению обмена «полумолекулами» антител IgG4, эта активность называется в настоящем документе обменом плечами Fab. В частности, в биспецифичных или бипаратопных молекулах это приводит к функционально одновалентным антителам с неизвестной специфичностью и, следовательно, потенциально, к снижению терапевтической эффективности. Мутации могут быть введены в домен Fc для ингибирования обмена плечами Fab. Известно, что мутация S228P может предотвращать обмен плечами Fab IgG4 до недетектируемых уровней как *in vitro*, так и *in vivo*.

[000157] *Домен Fc*: В настоящем документе термин «область Fc» относится к C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит по меньшей мере часть константной области. В объем указанного термина входит область Fc с нативной последовательностью и варианты областей Fc. Согласно одному варианту реализации область Fc тяжелой цепи IgG человека простирается от Cys226 или от Pro230 до карбоксильного конца тяжелой цепи. Однако C-концевой лизин (Lys447) области Fc может присутствовать или может отсутствовать. Если в настоящем документе не указано иное, нумерация аминокислотных остатков в области Fc или константной области соответствует системе нумерации ЕС, также называемой индексом ЕС, как описано в Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991.

[000158] *Гуманизованное антитело*: Термин «гуманизованное антитело» включает нечеловеческие (например, мышинные) антитела, которые представляют собой специфичные цепи иммуноглобулина, химерные иммуноглобулины или их фрагменты, которые содержат минимальные нечеловеческие (например, мышинные) последовательности. Как правило, гуманизованные антитела представляют собой человеческие иммуноглобулины, в которых остатки из определяющего комплементарность участка (CDR) заменяют остатками из CDR вида, отличного от человека (например, мыши, крысы, кролика, хомяка), которые характеризуются желаемой специфичностью, аффинностью и способностью (Jones et al., *Nature* 321:522-525, 1986; Riechmann et al., *Nature* 332:323-327, 1988; Verhoeven et al., *Science* 239:1534-1536, 1988).

[000159] *Повышенная АЗКЦ*: Термин «повышенная АЗКЦ» определяется как повышение максимального процента специфичного лизиса, наблюдаемого в пределах диапазона концентраций антитела, протестированного выше, и/или снижение концентрации антитела, необходимой для достижения половины максимального процента

специфического лизиса, наблюдаемого в пределах диапазона концентраций антитела, протестированного выше. Повышение АЗКЦ представлено относительно АЗКЦ, измеренной с помощью приемлемого анализа, признанного в данной области техники.

[000160] *Моноклональное антитело*: Термин «моноклональное антитело» относится к антителу, полученному из популяции по существу единообразных антител, т. е. отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела обладают высокой специфичностью и направлены против одного антигенного сайта. Определение «моноклональный» указывает на то, что антитело получено из по существу однородной популяции антител, и его не следует толковать как требующее получения антитела каким-либо конкретным способом.

[000161] *Мультиспецифичное антитело*: В настоящем документе термин «мультиспецифичное антитело» относится к связывающим молекулам, антителам или их антигенсвязывающим фрагментам, которые способны специфично связываться с двумя или более разными эпитопами на одной и той же или разной мишени(ях).

[000162] *Бипаратопное антитело*: В настоящем документе термин «бипаратопное антитело» относится к мультиспецифичному антителу, способному связывать 2 различных неперекрывающихся эпитопа на одной и той же молекуле антигена-мишени.

[000163] *K_i или K_d* : В настоящем документе термин « K_d » в контексте настоящего документа относится к константе диссоциации конкретного взаимодействия антитела с антигеном, известной из уровня техники, и будет применяться в качестве параметра аффинности связывания нацеливающего фрагмента с его когнатным лигандом для рассматриваемых композиций.

[000164] *ИК50*: В настоящем документе термин «ИК50» относится к концентрации, необходимой для ингибирования половины максимального биологического ответа агониста лиганда, и обычно определяется с помощью анализов конкурентного связывания.

[000165] *ЭК50*: В настоящем документе термин «ЭК50» относится к полумаксимальной эффективной концентрации. Термин ЭК50 относится к концентрации лекарственного средства, антитела или токсического средства, которая индуцирует ответ, величина которого находится посередине между исходным уровнем и максимумом после указанного времени воздействия. Проще говоря, ЭК50 может быть определена как концентрация, необходимая для получения 50% желаемого эффекта.

[000166] *C5a*: В настоящем документе термин «C5a» относится к компоненту комплемента 5a.

[000167] *C5aR1*: В настоящем документе термин «C5aR1» относится к рецептору компонента комплемента 5a типа 1. Согласно некоторым вариантам реализации человеческий C5aR1 содержит SEQ ID NO: 38. Согласно некоторым вариантам реализации определенные аминокислоты человеческого C5aR1, содержащего SEQ ID NO: 38, имеют природные варианты, такие как (N2D и N279K), показанные в виде строчных букв в Таблице 1.

[000168] *Линкер*: В настоящем документе термин «линкер» относится к молекуле или группе молекул (таких как мономер или полимер), которая соединяет две молекулы и часто служит для размещения двух молекул в предпочтительной конфигурации. Ряд стратегий можно применять для ковалентного связывания молекул вместе. Они включают, но не ограничиваются перечисленными, полипептидные связи между N- и C-концом белков или белковых доменов, связь посредством дисульфидных связей и связь посредством химических сшивающих реагентов. Согласно одному аспекту данного варианта реализации линкер представляет собой пептидную связь, созданную с помощью рекомбинантных методик или пептидного синтеза. Согласно некоторым вариантам реализации линкер может содержать аминокислотные остатки, которые обеспечивают гибкость. Таким образом, линкерный пептид может преимущественно включать следующие аминокислотные остатки: Gly, Ser, Ala или Thr. Линкерный пептид должен иметь длину, достаточную для связывания двух молекул таким образом, чтобы они принимали правильную конформацию относительно друг друга так, что они сохраняют желаемую активность. Подходящие длины для этой цели включают по меньшей мере один и не более 30 аминокислотных остатков. Согласно одному варианту реализации линкер представляет собой от примерно 1 до 30 аминокислот в длину. В другом варианте реализации линкер представляет собой от примерно 1 до 15 аминокислот в длину. Кроме того, аминокислотные остатки, выбранные для включения в линкерный пептид, должны проявлять свойства, которые не ухудшают в значительной степени активность полипептида.

[000169] *Нейтрофил*: В настоящем документе термин «нейтрофил» относится к основному классу лейкоцитов в периферической крови. Нейтрофилы играют важную роль в поглощении и уничтожении внеклеточных патогенов.

[000170] *scFv*: В настоящем документе термин «scFv» относится к слитому белку переменных областей тяжелой (VH) и легкой (VL) цепей иммуноглобулинов, соединенных коротким линкерным пептидом, составляющим от десяти до примерно 25 аминокислот.

[000171] *Fab*: В настоящем документе термин «Fab» относится к фрагменту антитела, содержащему часть интактного антитела, которая содержит антигенсвязывающую или переменную область указанного антитела.

[000172] *Нейтропения*: В настоящем документе термин «нейтропения» относится к низкому количеству нейтрофилов. Например, у субъекта-человека нейтропения может находиться в диапазоне от менее 500 АКН (абсолютное количество нейтрофилов) до менее 1500 АКН. АКН измеряют в клетках на микролитр крови. Нейтропения у мышей определяется как <10 нейтрофилов/мм³ крови.

[000173] *In vitro*: В настоящем документе термин «*in vitro*» относится к событиям, которые происходят в искусственной среде, например, в пробирке или реакционном сосуде, в культуре клеток и т. д., но не в многоклеточном организме.

[000174] *In vivo*: В настоящем документе термин «*in vivo*» относится к событиям, которые происходят в многоклеточном организме, таком как человек и животное, отличное от человека. В контексте клеточных систем термин может использоваться для обозначения событий, которые происходят в живой клетке (в отличие, например, от систем *in vitro*).

[000175] *Субъект*: В настоящем документе термин «субъект» относится к человеку или любому животному, отличному от человека (такому как мышь, крыса, кролик, собака, кошка, крупный рогатый скот, свинья, овца, лошадь или примат). Человек включает пре- и постнатальные формы. Согласно многим вариантам реализации субъект представляет собой человека. Субъект может представлять собой пациента, который относится к человеку, обращающемуся к поставщику медицинских услуг для диагностики или лечения заболевания. Термин «субъект» используется в настоящем документе взаимозаменяемо с «индивидуум» или «пациент». Субъект может быть поражен или подвержен заболеванию или нарушению, но у него могут наблюдаться, но не обязательно, симптомы заболевания или нарушения.

[000176] *Дисфункция*: В настоящем документе термин «дисфункция» относится к патологической функции. Дисфункция молекулы (например, белка) может быть вызвана увеличением или уменьшением активности, связанной с такой молекулой. Дисфункция молекулы может быть вызвана дефектом, связанным с самой молекулой, или другими молекулами, которые прямо или опосредованно взаимодействуют с молекулой или регулируют ее.

[000177] *Производные*: В настоящем документе термин «производные» при использовании в связи с антителом, или антителами к C5aR1, относится к части, имеющей некоторую часть последовательности исходной молекулы, которая сохраняет по меньшей мере некоторые функции и/или свойства исходной молекулы.

[000178] *Идентичность*: В настоящем документе термин «идентичность» относится к взаимосвязи между последовательностями двух или более полипептидных молекул или двух или более молекул нуклеиновой кислоты, известных в данной области техники, при сравнении последовательностей этих молекул. Взаимосвязь определяют путем выполнения. В данной области техники «идентичность» также означает степень родственности последовательностей между молекулами нуклеиновой кислоты или полипептидами и в некоторых случаях более чем одной нуклеотидной последовательности или более чем одной. Она может быть определена путем сопоставления строк аминокислотной последовательности. «Идентичность» означает между выравниванием пропусков (если имеются), выполненным с помощью конкретной математической модели или компьютерной программы (т. е. «алгоритма»), и меньшей последовательностью из двух или более последовательностей. Измеряется процент идентичности при совпадении.

[000179] *Сходство* или *сходный*: В настоящем документе термин «сходство» используется в данной области техники в отношении родственных концепций, но, в отличие от «идентичности», «сходство» относится как к идентичным совпадениям, так и к совпадениям по консервативным заменам. Если две полипептидные последовательности имеют, например, 10 идентичных аминокислот из 20 аминокислот, а все остальные представляют собой неконсервативные замены, то процент идентичности и процент сходства оба составляют 50%. В том же примере, если имеется еще 5 консервативных замен, процент идентичности остается 50%, но процент сходства составляет 75%. Таким образом, если существуют консервативные замены, процент сходства между двумя полипептидами выше, чем процент идентичности между указанными двумя полипептидами.

[000180] *Лечение*: В настоящем документе термин «лечить», «лечение» или «осуществлять лечение» относится к любому методу, используемому для частичного или полного облегчения, улучшения, ослабления, ингибирования, предотвращения, отсрочки начала, снижения тяжести и/или снижения частоты возникновения одного или более симптомов или признаков конкретного заболевания, нарушения и/или состояния. Лечение может проводиться у субъекта, у которого не наблюдаются признаки заболевания и/или наблюдаются только ранние признаки заболевания, с целью уменьшения риска развития патологии, связанной с заболеванием.

[000181] *Вектор*: Термин «вектор» относится к полинуклеотиду (обычно ДНК), применяемому для искусственного переноса чужеродного генетического материала в другую клетку, где он может реплицироваться или экспрессироваться. Неограничивающие примерные векторы включают плазмиды, вирусные векторы, космиды и искусственные хромосомы. Такие векторы могут быть получены из множества источников, включая

бактериальные и вирусные источники. Неограничивающий примерный вирусный источник для плазмиды представляет собой аденоассоциированный вирус.

[000182] Различные аспекты настоящего изобретения подробно описаны в следующих разделах. Применение разделов не предназначено для ограничения настоящего изобретения. Каждый раздел может применяться к любому аспекту настоящего изобретения. В настоящей заявке использование термина «или» означает «и/или», если не указано иное. В настоящем документе формы единственного числа (соотв. «a», «an» и «the» в исходном тексте на английском языке) включают как эквиваленты в единственном числе, так и эквиваленты во множественном числе, если иное явным образом не следует из контекста.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[000183] В настоящем раскрытии описаны антитела, нуклеиновые кислоты и системы для их изготовления, а также варианты применения и способы лечения заболеваний, связанных с дисфункциональной передачей сигналов по оси C5a/C5aR1, в частности, аутоиммунных заболеваний, таких как, но не ограничиваясь перечисленными, АНЦА-связанный васкулит, волчанка, ревматоидный артрит, воспалительное заболевание кишечника, гломеруллопатия СЗ (С3G), гнойный гидраденит (HS), атипичный гемолитико-уремический синдром

[000184] Волчаночный нефрит, IgA-нефропатия, тяжелая миастения, дегенерация желтого пятна, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, болезнь Хантингтона, нейропатическая боль, инфекция COVID-19, аллергическая астма, хроническая обструктивная болезнь легких, буллезный пемфигоид, гангренозная пиодермия и псориаз.

[000185] АНЦА-связанный васкулит представляет собой группу заболеваний (гранулематоз с полиангиитом, эозинофильный гранулематоз с полиангиитом и микроскопический полиангиит), характеризующихся разрушением и воспалением мелких сосудов. Антинейтрофильные цитоплазматические аутоантитела (АНЦА) являются причиной АНЦА-связанного васкулита. Экспериментальные данные в моделях на животных и экспериментах *in vitro* демонстрируют, что праймированные нейтрофилы активируются АНЦА, что генерирует C5a, который взаимодействует с рецепторами C5a на нейтрофилах. Это привлекает и, в свою очередь, праймирует большее количество нейтрофилов для активации под действием АНЦА. Связывание C5a с C5aR1 может играть центральную роль в патогенезе АНЦА-связанного васкулита. Общая схема АНЦА-васкулита показана на **ФИГ. 1**. Стандартное лечение представляет собой иммуносупрессивную терапию глюкокортикоидами; эти виды терапии связаны со

значительной кратковременной и длительной токсичностью. Авакопан, C5aR1-связывающая антагонистическая малая молекула, недавно был принят Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) для применения при АНЦА-связанном васкулите. Однако данные *in vitro* позволяют предположить, что антагонистическое действие авакопана на C5a может быть преодолено высокими концентрациями C5a. Известно, что концентрация C5a в очаге воспаления при активном АНЦА-связанном васкулите может достигать 100 нМ. Известно, что в таких условиях ингибирование C5aR1 авакопаном может быть преодолено. Существует потребность в разработке устойчивых ингибиторов оси C5a/C5aR1 для противодействия нарушениям, связанным с дисфункцией этого пути. Согласно настоящему изобретению предложены композиции и способы лечения нарушений, связанных с дисфункцией оси C5a/C5aR1, с применением биологических антагонистов C5aR1.

[000186] Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения предложены две группы примерных антител, связывающих C5aR1 и оказывающих антагонистическое действие на него. Схематическое представление двух групп антител в настоящем изобретении показано на **ФИГ. 2**.

[000187] Энергия связывания агониста с внеклеточным доменом передает аллостерическое конформационное изменение трансмембранному и внутриклеточному доменам, обеспечивая связывание и передачу сигналов G-белка. C5aR1 имеет два известных агониста: C5a и C5a^{desArg}. C5a имеет короткий период полужизни в сыворотке крови, поскольку C-концевой аргинин быстро отщепляется карбоксипептидазой N с образованием C5a^{desArg}, который связывается с C5aR1 со сниженной аффинностью и проявляет измененную передачу сигналов. C5a^{desArg}, в отличие от C5a, не передает сигналы посредством пути β-аррестина и не стимулирует высвобождение гранулоцитов. Однако C5a^{desArg} действительно стимулирует хемотаксис нейтрофилов, поэтому блокирование связывания C5a^{desArg} для предотвращения миграции нейтрофилов к очагу воспаления также представляет интерес. Передача сигналов с участием C5a^{desArg} способствует хемотаксису и не подвержена десенсибилизации (например, нейтрофилы продолжают мигрировать до достижения высоких концентраций C5a, но не C5a^{desArg}). Согласно одному варианту реализации ортостерический антагонист, который блокирует связывание C5a (например, молекула антитела, описанная в настоящем документе), также ингибирует (например, блокирует) связывание C5a^{desArg}. Ингибирование связывания C5a необходимо, в некоторых вариантах реализации, в очаге воспаления, в то время как ингибирование C5a^{desArg} происходит на периферии и может предотвращать миграцию нейтрофилов в очаг

воспаления. Нацеливание на C5aR1, как правило, оставляет путь мембраноатакующего комплекса (C5b) нетронутым.

Дизайн моноспецифичных антагонистов C5aR1

[000188] Согласно некоторым вариантам реализации антитела, представленные в настоящем документе, связывают сайт, определенный SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2, также называемый «сайтом I». Сайт I, как правило, содержит N-концевые остатки (например, 37 N-концевых остатков) C5aR1 и образует гибкую произвольную спиральную структуру, определенную SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. Молекула антитела, которая связывается с сайтом I, как правило, может связываться со всеми остатками в сайте I или их подгруппой. Например, молекула антитела, которая связывается с сайтом I, контактирует с одним или более остатками в сайте I. Согласно варианту реализации сайт I обычно содержит ряд сульфатированных остатков (например, сульфатированные остатки тирозина), и ряд остатков Asp.

[000189] Согласно некоторым вариантам реализации антитела, представленные в настоящем документе, связывают сайт, определенный SEQ ID NO: 3, также называемый «сайтом II». Сайт II, как правило, содержит внеклеточную петлю 2 (ECL2) и трансмембранные остатки, образующие преддверие C5aR1. Согласно варианту реализации молекула антитела, которая связывается с сайтом II, связывается с ECL2, но не связывается или по существу не связывается с ECL1 и/или ECL3. Согласно варианту реализации молекула антитела, которая связывается с сайтом II, связывается с ECL2 и ECL1, но не связывается или по существу не связывается с ECL3.

[000190] Согласно некоторым вариантам реализации молекулы антител, описанные в настоящем документе, предназначены для нацеливания на сайт II, определяемый аминокислотами SEQ ID NO: 3. Согласно некоторым вариантам реализации аминокислоты, включающие R175-G189 из SEQ ID NO: 38, представляют собой коровые эпитопы для связывания молекул антител к сайту II, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации аминокислоты, включающие E180 – P183 из SEQ ID NO: 38, представляют собой коровые эпитопы для связывания молекул антител к сайту II, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации аминокислоты, включающие E180 – P184 из SEQ ID NO: 38, представляют собой коровые эпитопы для связывания молекул антител к сайту II, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации аминокислоты, включающие E178 – P183 из SEQ ID NO: 38, представляют собой коровые эпитопы для связывания молекул антител к сайту II, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации один или более из остатков R35, H101, V176, V177, R178, E179, E180, Y181, F182, P183

P184, K185, L187, D191, S193, H194, E266, P267, S268, F272, L273 и/или K276 C5aR1 (SEQ ID NO: 38) важны для связывания антител к сайту II, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации один или более из остатков E180, Y181, F182 и/или P183 из SEQ ID NO: 38 являются критическими эпитопами для связывания антител к сайту II, описанных в настоящем документе. Согласно одному варианту реализации аминокислотный остаток W102 из SEQ ID NO: 38 является критическим для связывания антител к сайту II, описанных в настоящем документе.

[000191] Последовательности SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3 представлены в **Таблице 1**.

Таблица 1. Аминокислотные последовательности сайта I, сайта II и человеческого C5aR1. Варианты (N2D и N279K) показаны строчными буквами.

Последовательность сайта I	MNSFNYYTPDYGHYDDKDTLDLNTVPDKTSNTRLRVPD (SEQ ID NO: 1)
Последовательность сайта I	MDSFNYYTPDYGHYDDKDTLDLNTVPDKTSNTRLRVPD (SEQ ID NO: 2)
Последовательность сайта II	RVVREEYFPPKVLCGVDSYSHDKRRER (SEQ ID NO: 3)
hC5aR1	MnSFNYYTPDYGHYDDKDTLDLNTVPDKTSNTRLRVPDILAL VIFAVVFLVGVLGNALVWVTAFAEKRTINAIWFLNLAVA DFLSCLALPILFTSIVQHHPFPGGAACSILPSLILLNMYASI LLLATISADRFLLVFKPIWCQNFRGAGLAWIACAVAWGLAL LLTIPSFLYRVVREEYFPPKVLCGVDSYSHDKRRERAVAIVRL VLGFLWPLLTLTICYTFILLRTWSRRATRSTKTLKVVAVV ASFFIFWLPYQVTGIMMSFLEPSSPTFLLL _n KLDSLCSVFAYI NCCINPIIYVAGQGFQGRRLRKSLSLLRNVLTEESVVRESK SFTRSTVDTMAQKTQAV (SEQ ID NO: 38)

[000192] Согласно некоторым аспектам примерные гуманизированные антитела, связывающие сайт I (SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2), представленные в настоящем документе, содержат вариабельную область тяжелой цепи (HCVR или VH), содержащую аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 16 или с SEQ ID NO: 39 по SEQ ID NO: 43 или последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности указанной последовательности, и/или вариабельную область легкой цепи (LCVR или VL), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 или с SEQ ID NO: 44 по SEQ ID NO: 49 или последовательность, имеющую по меньшей мере

80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности указанной последовательности. В **Таблице 2а** обобщены аминокислотные последовательности VH и VL примерных антител, связывающих сайт I. Согласно некоторым вариантам реализации три определяющих комплементарность участка тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3 находятся в HCVR или VH (SEQ ID NO: 16 или с SEQ ID NO: 39 по SEQ ID NO: 43). Согласно некоторым вариантам реализации три определяющих комплементарность участка легкой цепи, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 находятся в LCVR или VL (SEQ ID NO: 17 или с SEQ ID NO: 44 по SEQ ID NO: 49). Следует отметить, что примерное гуманизованное полноразмерное антитело, связывающее сайт I, может содержать любую комбинацию VH, выбранной из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16 или SEQ ID NO: 39-43, и VL, выбранной из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 44-49.

[000193] Следует отметить, что гуманизованное полноразмерное антитело, связывающееся с сайтом I, может содержать любую комбинацию VH, выбранной из любой аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16 или SEQ ID NO: 39-43, или аминокислотной последовательности, которая на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% идентична SEQ ID NO: 16 или SEQ ID NO: 39-43, и VL, выбранной из любой аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 44-49, или аминокислотной последовательности, которая на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% идентична SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 44-49.

[000194] Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело, связывающееся с сайтом I, e1711, содержит тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 17 или аминокислотную последовательность, которая на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% идентична SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело, связывающееся с сайтом I, e1711, содержит легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 16 или аминокислотную последовательность, которая на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% идентична SEQ ID NO: 16.

[000195] Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело, связывающееся с сайтом I, e1711, содержит тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 43 или аминокислотную последовательность, которая на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% идентична SEQ ID NO: 43. Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело, связывающееся с сайтом I, e1711, содержит легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 48 или аминокислотную последовательность, которая на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% идентична SEQ ID NO: 48.

[000196] Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело, связывающееся с сайтом I, e1711, представленное в настоящем документе, содержит

вариабельную область легкой цепи e11L, и вариабельная область тяжелой цепи e11H содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77 или последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентична указанной последовательности, и/или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 78 или последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентична указанной последовательности.

Таблица 2а. Вариабельные области примерных гуманизированных антител, связывающих сайт I

Гуманизированные антитела к сайту I: Вариабельные области тяжелой цепи (SEQ ID NO: 16; SEQ ID NO: 39-43)	
e1H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAASGFTFNAYAMSWVRQAPG QGLEWMGSISTGGNTYYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCTRGYQRFSGFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 39)
e11H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNAYAMSWVRQATGK GLEWVSSISTGGNTYYPGSVKGRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAG DTAVYYCTRGYQRFSGFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 40)
e14H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNAYAMSWVRQATGK GLEWVSSISTGGNTYYPGSVKGRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAG DTAVYYCARGYQRFSGFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 41)
e16H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNAYAMSWVRQAPGK GLEWVSSISTGGNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCTRGYQRFSGFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 42)
e17H	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFNAYAMSWVRQAPGKG LEWVSSISTGGNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCTRGYQRFSGFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 43)
e1711H	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFNAYAMSWVRQAPGKC LEWVSSISTGGNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCTRGYQRFSGFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)
Гуманизированные антитела к сайту I: Вариабельные области легкой цепи (SEQ ID NO: 17; SEQ ID NO: 44-49)	
e3L	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSIVHSNGNTYLNWYQQK GKAPKLLIYKVSNRLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCSQSTHVPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 44)

e5L	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLNWLQQRPGQPPRLLIYKVS NRLSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 45)
e6L	DVVMQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLNWYQQRPGQPPRLLIYKVS NRLSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 46)
e8L	DVVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLVHSNGNTYLNWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRLSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 47)
e11L	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLVHSNGNTYLNWYQQKPGQAPRLLIYKVS NRLSGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCSQSTHVPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 48)
e20L	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVVHSNGNTYLNWYQQKPGQAPRLLIYKVS NRLSGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCSQSTHVPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 49)
e1711L	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLVHSNGNTYLNWYQQKPGQAPRLLIYKVS NRLSGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCSQSTHVPYTFGCGTKLEIK (SEQ ID NO: 17)

Таблица 2b. Тяжелая цепь и легкая цепь примерных гуманизированных антител, связывающих сайт I

тяжелая цепь примерного моноспецифичного антитела к сайту I e1711	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFNAYAMSWVRQAPGK GLEWVSSISTGGNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCTRGYQRFSGFAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNV D HKPSNTKVDK RVE SKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 77)
легкая цепь примерного	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLVHSNGNTYLNWYQQK PGQAPRLLIYKVS NRLSGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAV

моноспецифичного антитела к сайту I e1711	YYCSQSTHVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 78)
---	---

[000197] Согласно некоторым аспектам примерные антитела, связывающиеся с сайтом II, представленные в настоящем документе, содержат HCVR или VH, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 14 или с SEQ ID NO: 50 по SEQ ID NO: 59, или последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности указанной последовательности, и/или LCVR или VL, содержащие аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 60 по SEQ ID NO: 68 или последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности указанной последовательности. В **Таблице 3** обобщены аминокислотные последовательности VH и VL примерных антител, связывающихся с сайтом II. Согласно некоторым вариантам реализации три определяющих комплементарность участка тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3 находятся в HCVR или VH (с SEQ ID NO: 50 по SEQ ID NO: 59). Согласно некоторым вариантам реализации три определяющих комплементарность участка легкой цепи LCDR1, LCDR2 и LCDR3 находятся в LCVR или VL (с SEQ ID NO: 60 по SEQ ID NO: 68).

[000198] Следует отметить, что гуманизованное полноразмерное антитело, связывающее сайт II, может содержать любую комбинацию VH, выбранной из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14 или SEQ ID NO: 50-59, или имеющей по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 14 или SEQ ID NO: 50-59, и VL, выбранной из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15 или SEQ ID NO: 25, или SEQ ID NO: 60-68 или имеющей по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 15 или SEQ ID NO: 25 или SEQ ID NO: 60-68.

Таблица 3. Вариабельные области примерных гуманизованных антител, связывающих сайт II

Гуманизованные антитела к сайту II: Вариабельные области тяжелой цепи (SEQ ID NO: 14; SEQ ID NO: 50-59)	
a4H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSSSWINWVRQAPGQGLEWMGRISAYDGDTRYAQKLQGRVTMTADKSTSTAYM

	ELRSLRSDDTAVYYCVRFLITSTRYVMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 50)
a9H	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASGYSFSSSWMNWVRQA PGQRLEWMGRISAGDGDTRYAQKFQGRVTITADKSASTAYM ELSSLRSEDVAVYYCVRFLITSTRYVMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 51)
a16H	QVQLVQSGAEVKKKPGSSVKVSCASGGSFSSSWINWVRQAP GQGLEWMGRISPGDGDTRYAQKFQGRVTITADKSTSTAYME LSSLRSEDVAVYYCVRFLITSTRYVMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 52)
a20H	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASGYSFSSSWINWVRQAT GQGLEWMGRMSPGDGDTRYAQKFQGRVTMTANKSISTAYM ELSSLRSEDVAVYYCVRFLITSTRYVMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 53)
a26H	EVQLVQSGAEVKKKPGESLRISCKASGYSFSSSWMNWVRQMP GKGLEWMGRISPGDGDTRYSPSFQGHVTISADKSISTAYLQW SSLKASDTAMYFCVRFLITSTRYVMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 54)
a30H	EVQLVQSGAEVKKKPGESLKISCKGSGYSFSSSWINWVRQMPG KGLEWMGRISPGDGDTRYSPSFQGGVTISADKSISTAYLQWSS LKASDTAMYCYCVRFLITSTRYVMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 55)
c2H	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMHWVRQA PGQGLEWMGYLNPSSGYTKYAQKLQGRVTMTADKSTSTAY MELRSLRSDDTAVYYCTRSGGDNYGNPYYFDRWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO: 56)
c13H	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMHWVRQA PGQRLEWMGYLNPSSGYTKYSQKFQGRVTITRDTASTAYM ELSSLRSEDVAVYYCTRSGGDNYGNPYYFDRWGQGTTVTVS S (SEQ ID NO: 57)
c32H	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASGYTFTNYWIHWVRQA TGQGLEWMGYMNPSSGYTKYAQKFQGRVTMTANKSISTAY MELSSLRSEDVAVYYCTRSGGDNYGNPYYFDRWGQGTTVTV SS (SEQ ID NO: 58)

c21H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQA PGQGLEWMGYLNPSSGYTKYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDVAVYYCTRSGGDNYGNPYYFDRWGQGTTVTV SS (SEQ ID NO: 14)
c40H	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTNYWIHWVRQMP GKGLEWMGYINPSSGYTKYSPSFQGVVTISADKSISTAYLQW SSLKASDTAMYYCTRSGGDNYGNPYYFDRWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 59)
Гуманизированные антитела к сайту II: Вариабельные области легкой цепи (SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 60-68)	
a1L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQ QKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCSQSTLVPPTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO: 60)
a6L	DVVMVTQTPPLSPPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQ QRPGQPPRLIYKVSNRFSGVPDFRFSGSGAGTDFTLKISRVEAE DVGVIYYCSQSTLVPPTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO: 61)
a15L	EVVMTQSPATLSVSPGERATLSCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQ QKPGQAPRLIYKVSNRFSGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSED FAVYYCSQSTLVPPTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO: 62)
c4L	DVQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIIVHSNGNTYLHWYQ QKPGKAPKFLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCSQSTLVPLTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO: 63)
c6L	DVVMVTQTPPLSPPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQ QRPGQPPRFLIYKVSNRFSGVPDFRFSGSGAGTDFTLKISRVEAE DVGVIYYCSQSTLVPLTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO: 64)
c8L	DVVMVTQSPSLPVPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQ KPGQSPQFLIYKVSNRFSGVPDFRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED VGVYYCSQSTLVPLTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO: 65)
c9L	DVVMVTQSPSLPVTGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWFQ QRPGQSPRRLIYKVSNRFSGVPDFRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGVIYYCSQSTLVPLTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO: 66)
c10L	DVVMVTQSPSLPVTGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQ QRPGQSPRFLIYKVSNRFSGVPDFRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGVIYYCSQSTLVPLTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO: 67)

c38L	DVQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIVHSNGNTYLHWYQ QKPGKAPKFLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCSQYTLVPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 68)
c37L	DVQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIVHSNGNTYLHWYQ QKPGKAPKFLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCAQSTLVPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 15)
c39L	DVQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIVHSNGNTYLHWYQ QKPGKAPKFLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCAQYTLVPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 25)

[000199] Согласно некоторым аспектам примерное антитело, связывающее сайт II, содержит комбинацию c39L (SEQ ID NO: 14) и c21H (SEQ ID NO: 25) с получением антитела c2139.

[000200] Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело, связывающее сайт II, c2139, представленное в настоящем документе, содержит переменную область легкой цепи c39L, и переменная область тяжелой цепи c21H содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 или последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентична указанной последовательности, и/или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 или последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности указанной последовательности.

[000201] Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело, связывающее сайт II, c2137, представленное в настоящем документе, содержит переменную область легкой цепи c37L, и переменная область тяжелой цепи c21H содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 или последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентична указанной последовательности, и/или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 75 или последовательность, которая по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентична указанной последовательности.

[000202] Согласно некоторым аспектам примерное антитело, связывающее сайт II (SEQ ID NO: 3), c2139, представленное в настоящем документе, содержит тяжелую цепь, содержащую HCVR или VH, причем указанный HCVR или VH содержит три определяющих комплементарность участка тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3,

содержащих SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, соответственно. Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело, связывающее сайт II, представленное в настоящем документе, дополнительно содержит LCVR или VL, причем указанный LCVR или VL содержит три определяющих комплементарность участка легкой цепи LCDR1, LCDR2 и LCDR3, содержащих SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 11, соответственно, или содержит последовательность, которая отличается не более чем 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотами от аминокислот SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 10 и/или 11. Последовательности тяжелой цепи, легкой цепи, а также HCDR и LCDR представлены в **Таблице 4а.**

[000203] Согласно некоторым аспектам примерное антитело, связывающее сайт II, с2139, представленное в настоящем документе, содержит HCVR или VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 или последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности указанной последовательности, и/или LCVR или VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25 или последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности указанной последовательности.

[000204] Согласно одному аспекту в настоящем документе описана молекула примерного антитела, способная связываться с рецептором компонента комплемента 5а типа 1 (C5aR1), с2139, причем указанная молекула антитела конкурирует с молекулой антитела к C5aR1, способной связываться с одним или более остатками аминокислот сайта II (SEQ ID NO: 3).

[000205] Согласно некоторым вариантам реализации примерные антитела, связывающие сайт II, содержат глицин или аланин в положении 89 VH. Согласно некоторым вариантам реализации примерные антитела, связывающие сайт II, содержат тирозин в положении 91. Согласно некоторым вариантам реализации примерные антитела, связывающие сайт II, содержат тирозин в положении 91 и глицин или аланин в положении 89 VH.

Таблица 4а. Аминокислотные последовательности тяжелых, легких цепей, HCDR и LCDR примерных гуманизированных антител к сайту II C5aR1

Тяжелая цепь с2139	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNY WMHWVRQAPGQGLEWMGYLNPSSGYTKYAQK FQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYC TRSGGDNYGNPYYFDRWGQGTTVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
--------------------	--

	WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP VLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 4)
Легкая цепь c2139	DVQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIVHSNG NTYLHWYQQKPGKAPKFLIYKVSNRFSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCAQYTLVPLTF GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 5)
HCDR1 c2139	NYWMH (SEQ ID NO: 6)
HCDR2 c2139	YLNPSGYSKPTAKKQKPKG (SEQ ID NO: 7)
HCDR3 c2139	SGGDNYGNPYYFDR (SEQ ID NO: 8)
LCDR1 c2139	RASQSIVHSNGNTYLH (SEQ ID NO: 9)
LCDR2 c2139	KVSNRFS (SEQ ID NO: 10)
LCDR3 c2139	AQYTLVPLT (SEQ ID NO: 11)
Тяжелая цепь c2137	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNY WMHWVRQAPGQGLEWMGYLNPSSGYTKYAQK FQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC TRSGGDNYGNPYYFDRWGQGTITVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP

	VLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 4)
Легкая цепь с2137	DVQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIVHSNG NTYLHWYQQKPGKAPKFLIYKVSNRFSGVPSRFS GSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCAQSTLVPLTF GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 75)

[000206] Согласно некоторым вариантам реализации HCVR и LCVR примерных антител, связывающих сайт II, таких как, например, с2139, дополнительно связаны с доменом Fc. Домен Fc дополнительно содержит домен CH2 и CH3, связанные друг с другом линкером. Однако настоящее изобретение также включает биологические молекулы, связывающие сайт II, лишённые домена Fc.

[000207] Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело к C5aR1, связывающее сайт I или сайт II, связывает C5aR1 с константой диссоциации (Kd) от 10 пМ до 50 нМ, тем самым ингибируя ассоциацию C5aR1 с C5a, что оказывает антагонистическое действие на путь оси C5a/C5aR1.

[000208] Согласно некоторым вариантам реализации эффективное ингибирование антителом к C5a/C5aR1 измеряют по ингибированию передачи сигналов с участием Gα, ингибированию хемотаксиса нейтрофилов, ингибированию экспрессии CD11b и ингибированию передачи сигналов с участием кальция.

[000209] Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело к C5aR1, связывающее сайт I или сайт II, не связывается или по существу не связывается с C5aR2 или другими GPCR.

[000210] Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело к C5aR1, связывающее сайт I или сайт II, способно связываться с человеческими нейтрофилами.

[000211] Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело к C5aR1, связывающее сайт I или сайт II, ингибирует передачу сигнала с участием β-аррестина.

[000212] Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело к C5aR1, связывающее сайт I или сайт II, ингибирует продуцирование АФК в нейтрофилах.

[000213] Согласно некоторым вариантам реализации примерное антитело к C5aR1, связывающее сайт I или сайт II, интернализуется. Согласно некоторым вариантам реализации интернализация занимает по меньшей мере 6 часов. Согласно некоторым

вариантам реализации интернализация занимает по меньшей мере 12 часов. Согласно некоторым вариантам реализации интернализация занимает менее 6 часов.

Разработка мультиспецифичных антагонистов C5aR1

[000214] Согласно некоторым аспектам антитела, представленные в настоящем документе, представляют собой мультиспецифичные антитела. Согласно варианту реализации молекула мультиспецифичного антитела представляет собой молекулу мультипаратопного антитела, например, она содержит множество последовательностей вариабельной области иммуноглобулина, причем первая последовательность вариабельной области иммуноглобулина из множества имеет специфичность связывания в отношении первого эпитопа, и вторая последовательность вариабельной области иммуноглобулина из множества имеет специфичность связывания в отношении второго эпитопа. Согласно варианту реализации первый и второй эпитопы находятся на одном и том же антигене, например, на одном и том же белке (или субъединице мультимерного белка). Биспецифичное или бипаратопное антитело обладает специфичностью в отношении не более чем двух антигенов или эпитопов. Молекула биспецифичного или бипаратопного антитела, как правило, характеризуется первой последовательностью вариабельной области иммуноглобулина, которая имеет специфичность связывания в отношении первого эпитопа, и второй последовательностью вариабельной области иммуноглобулина, которая имеет специфичность связывания в отношении второго эпитопа. Согласно варианту реализации молекула биспецифичного или бипаратопного антитела содержит полуантитело или его фрагмент, имеющий специфичность связывания в отношении первого эпитопа, и полуантитело или его фрагмент, имеющий специфичность связывания в отношении второго эпитопа. Согласно варианту реализации первый и второй эпитопы находятся на одном и том же антигене, например, на одном и том же белке (или субъединице мультимерного белка). Согласно варианту реализации первый эпитоп расположен на C5aR1 (например, сайт I, например, содержащий N-концевую область, описанную в настоящем документе), и второй эпитоп расположен на C5aR1 (например, сайт II, например, содержащий ECL2, описанный в настоящем документе). Согласно варианту реализации антитело представляет собой бипаратопное антитело, которое связывается с сайтом I (SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2) и сайтом II (SEQ ID NO: 3) C5aR1.

[000215] Согласно некоторым аспектам бипаратопное антитело содержит пару VH и VL из Таблицы 2a. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело содержит пару VH и VL из Таблицы 3. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело содержит пару VH и VL из Таблицы 2a и пару VH и VL из Таблицы 3. Согласно некоторым аспектам бипаратопное антитело содержит VH, выбранную из

аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14 или SEQ ID NO: 50-59, или имеющую по меньшей мере 85%, 90%, 95%, 99% или 100% идентичность с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 14 или SEQ ID NO: 50-59, и VL, выбранную из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15 или SEQ ID NO: 25 или SEQ ID NO: 60-68 или имеющую по меньшей мере 85%, 90%, 95%, 99% или 100% идентичность с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 15 или SEQ ID NO: 25 или SEQ ID NO: 60-68. Согласно некоторым аспектам бипаратопное антитело содержит VH, выбранную из любой аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16 или SEQ ID NO: 39-43, или аминокислотной последовательности, которая на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% идентична SEQ ID NO: 16 или SEQ ID NO: 39-43, и VL, выбранную из любой аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 44-49, или аминокислотной последовательности, которая на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% идентична SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 44-49.

[000216] Согласно некоторым вариантам реализации один эпитоп бипаратопного антитела, описанного в настоящем документе, разработан для нацеливания на сульфатированный N-концевой пептид или сайт I C5aR1, определяемый SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. Согласно некоторым вариантам реализации остатки сайта I, на которые нацелены молекулы антитела, описанные в настоящем документе, являются сульфатированными. Согласно некоторым вариантам реализации один или более из аминокислотных остатков T8 (треонин 8), D10 (аспартат 10), Y11 (тирозин 11), Y14 (тирозин 14) и/или D15 (аспартат 15) являются критическими точками контакта эпитопа сайта I. Согласно некоторым вариантам реализации сульфатирование в Y11 и/или Y14 является критическим для связывания молекул антител к сайту I, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации коровый эпитоп охватывает 12 аминокислот от T7 до D18 из SEQ ID NO: 38 для связывания молекул антител к сайту I, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации коровый эпитоп охватывает аминокислоты от T8 до D18 из SEQ ID NO: 38 для связывания молекул антител к сайту I, описанных в настоящем документе.

[000217] Согласно некоторым вариантам реализации молекулы антител, описанные в настоящем документе, разработаны для нацеливания на сайт II, определяемый аминокислотами SEQ ID NO: 3. Согласно некоторым вариантам реализации аминокислоты, включающие R175-G189 из SEQ ID NO: 38, представляют собой коровые эпитопы для связывания молекул антител к сайту II, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации аминокислоты, включающие E180 – P183 из SEQ ID NO: 38, представляют собой коровые эпитопы для связывания молекул антител к сайту II,

описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации аминокислоты, включающие E180 – P184 из SEQ ID NO: 38, представляют собой коровье эпитопы для связывания молекул антител к сайту II, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации аминокислоты, включающие E178 – P183 из SEQ ID NO: 38, представляют собой коровье эпитопы для связывания молекул антител к сайту II, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации один или более из остатков R35, H101, V176, V177, R178, E179, E180, Y181, F182, P183 P184, K185, L187, D191, S193, H194, E266, P267, S268, F272, L273 и/или K276 C5aR1 (SEQ ID NO: 38) важны для связывания антител к сайту II, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации один или более из остатков E180, Y181, F182 и/или P183 из SEQ ID NO: 38 являются критическими эпитопами для связывания антител к сайту II, описанных в настоящем документе. Согласно одному варианту реализации аминокислотный остаток W102 из SEQ ID NO: 38 является критическим для связывания антител к сайту II, описанных в настоящем документе.

[000218] Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело, представленное в настоящем изобретении, содержит Fab-Fc и одноцепочечный переменный фрагмент (scFv), причем указанная Fc связана с scFv линкером. Согласно некоторым вариантам реализации домен Fab связывает сайт I, и scFv связывает сайт II.

[000219] Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело, представленное в настоящем изобретении, содержит Fab-Fc и одноцепочечный переменный фрагмент (scFv). Согласно некоторым вариантам реализации домен Fab связывает сайт II, и scFv связывает сайт I, причем указанная Fc связана с scFv линкером.

[000220] Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело, представленное в настоящем изобретении, представляет собой четырехвалентное антитело, содержащее тяжелую цепь, причем указанная тяжелая цепь содержит VH-Fc, связанную с доменом scFv, как показано на **ФИГ. 3А**.

[000221] Согласно некоторым вариантам реализации плечо, связывающее сайт II, бипаратопного антитела содержит глицин или аланин в положении 89 VH. Согласно некоторым вариантам реализации плечо, связывающее сайт II, бипаратопного антитела содержит тирозин в положении 91. Согласно некоторым вариантам реализации плечо, связывающее сайт II, бипаратопного антитела содержит тирозин в положении 91 и глицин или аланин в положении 89 VH.

[000222] Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело, представленное в настоящем изобретении, представляет собой четырехвалентное антитело,

содержащее легкую цепь, причем указанная легкая цепь содержит VL, связанную с доменом scFv, как показано на **ФИГ. 3В**.

[000223] Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело представляет собой биспецифичное антитело с двухплечевой одноцепочечной конструкцией Fab-Fc, содержащей мутации «выступы-во-впадины» (KiH) в домене CH3 для сборки двух полуантител (общий гетеродимер Fc и уникальные домены VH–CH и VL–CL). Согласно некоторым вариантам реализации мутации KiH, содержащие мутацию T366Y в одном домене CH3, можно использовать для создания выступа, в то время как мутацию Y407T в другом домене CH3 можно использовать для создания впадины. Согласно некоторым вариантам реализации мутацию F405A в одном домене CH3 можно использовать для создания выступа, в то время как мутацию T394W в другом домене CH3 можно использовать для создания впадины. Согласно некоторым вариантам реализации мутацию T366W в одном домене CH3 можно использовать для создания выступа, в то время как мутацию Y407A в другом домене CH3 можно использовать для создания впадины. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопные молекулы scFv-Fc могут быть получены с помощью технологии «выступ-впадина» (например, включая мутации для создания «впадины»: Y349C, T366S, L368A, Y407V; мутации для создания «выступа»: S354C, T366W).

[000224] Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело содержит форматы антител, описанные в **Таблице 4b**.

Таблица 4b. Форматы бипаратопных антител

(Сайт II) Fab-IgG-scFv (Сайт I)
(Сайт II) Fab-IgG-линкер-VL(Сайт I)-линкер-VH (Сайт I)
(Сайт II) Fab-IgG-линкер-VH(Сайт I)-линкер-VL (Сайт I)
(Сайт I) Fab-IgG-scFv (Сайт II)

[000225] Согласно одному варианту реализации бипаратопная молекула антитела к C5aR1 содержит две переменные области тяжелой цепи и две переменные области легкой цепи. Согласно одному варианту реализации молекула антитела к C5aR1 содержит Fab, F(ab')₂, Fv, Fd или одноцепочечный фрагмент Fv (scFv).

[000226] Согласно некоторым вариантам реализации домен Fc, используемый в данной заявке, содержит или получен из части Fc IgG, IgM, IgE. В дополнение к мутациям KiH, описанным выше, домен Fc содержит мутацию S228P. Согласно некоторым вариантам реализации S228P усиливает единообразие антитела. Согласно некоторым вариантам реализации домен Fc содержит домен Fc IgG или получен из него. Согласно некоторым

вариантам реализации домен Fc IgG представляет собой домен Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Согласно некоторым вариантам реализации домен Fc получен из домена Fc IgG4 или содержит его. Согласно некоторым вариантам реализации домен Fc получен из домена Fc IgG4 с мутацией S228P или содержит его. Согласно некоторым вариантам реализации домен Fc получен из домена Fc IgG1 или содержит его. Согласно некоторым вариантам реализации домен Fc получен из домена Fc IgG1 с мутацией S228P или содержит его.

[000227] Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело содержит две области scFv, связанные друг с другом линкером, причем первый scFv связывает сайт I, и второй scFv связывает сайт II.

[000228] Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело Fab-Fc-линкер-scFv представляет собой четырехвалентное антитело, содержащее последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 12 и последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 13, или любые последовательности, которые по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичны SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO 13.

[000229] Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело Fab-Fc-линкер-scFv представляет собой четырехвалентное антитело, содержащее последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 12 и последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 76, или любые последовательности, которые по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичны SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO 76.

[000230] В Таблице 4с представлены последовательности тяжелой и легкой цепей бипаратопного антитела.

Таблица 4с. Аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей гуманизованного бипаратопного антитела к C5aR1

Тяжелая цепь c2137-e1711	<p>QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVR QAPGQGLEWMGYLNPSSGYTKYAQKFQGRVTMTRDTSTS TVYMELSSLRSEDNAVYYCTRSGGDNYGNPYYFDRWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSS LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDGSFFLYSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN</p>
--------------------------	--

	<p>HYTQKSLSLSLGGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRS SQSLVHSNGNTYLNWYQQKPGQAPRLLIYKVS NRLSGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCSQSTHVPYTFGCGT KLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLIQPG GSLRLSCAASGFTFNAYAMSWVRQAPGKCLEWVSSISTGG NTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CTRGYQRFSGFAYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 12)</p>
Легкая цепь c2137-e1711	<p>DVQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIVHSNGNTYLHW YQQKPGKAPKFLIYKVS NRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCAQSTLVPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKSTYSLSSLTSLKADYEEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)</p>
Тяжелая цепь c2139-e1711	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVR QAPGQGLEWMGYLNPSSGYTKYAQKFQGRVTMTRDTSTS TVYMESSLRSED TAVYYCTRSGGDNYGNPYFDRWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSS LGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRS SQSLVHSNGNTYLNWYQQKPGQAPRLLIYKVS NRLSGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCSQSTHVPYTFGCGT KLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLIQPG GSLRLSCAASGFTFNAYAMSWVRQAPGKCLEWVSSISTGG NTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CTRGYQRFSGFAYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 12)</p>
Легкая цепь c2139-e1711	<p>DVQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIVHSNGNTYLHW YQQKPGKAPKFLIYKVS NRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCAQYTLVPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF</p>

	PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 76)
--	--

[000231] Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопная молекула имеет две переменные области – переменную область 1 и переменную область 2. Каждая переменная область содержит переменную тяжелую цепь и переменную легкую цепь.

[000232] Согласно примерному варианту реализации переменная область 1 содержит переменную тяжелую цепь 1 (VH1), содержащую SEQ ID NO: 14, и переменную легкую цепь 1 (VL1), содержащую SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации переменная область 1 содержит последовательность, которая на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности VH1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации переменная область 1 содержит последовательность, которая на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности VL1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15.

[000233] Согласно некоторым примерным вариантам реализации переменная область 2 содержит переменную тяжелую цепь 2 (VH2) и переменную легкую цепь 2 (VL2), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17, соответственно. Согласно некоторым вариантам реализации переменная область 2 содержит последовательность, которая на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности VH2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16. Согласно некоторым вариантам реализации переменная область 2 содержит последовательность, которая на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности VL2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

[000234] Согласно некоторым примерным вариантам реализации бипаратопное антитело, содержащее VH1, имеющую SEQ ID NO: 14, VL1, имеющую SEQ ID NO: 15, VH2, имеющую SEQ ID NO: 16, и VL2, имеющую SEQ ID NO: 17, называют с2137-e1711.

[000235] Согласно некоторым примерным вариантам реализации VH1 содержит три HCDR, HCDR1, HCDR2 и HCDR3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, или содержит последовательность, которая отличается не более чем 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотами от аминокислот из SEQ ID NO: 6, 7 и/или 8.

[000236] Согласно некоторым примерным вариантам реализации VH2 содержит три HCDR, HCDR4, HCDR5 и HCDR6, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20, или содержит последовательность, которая отличается не более чем 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотами от аминокислот из SEQ ID NO: 18, 19 и/или 20.

[000237] Согласно некоторым примерным вариантам реализации VL1 содержит три LCDR, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 21, или содержит последовательность, которая отличается не более чем 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотами от аминокислот из SEQ ID NO: 9, 10 и/или 21.

[000238] Согласно некоторым примерным вариантам реализации VL2 содержит три LCDR, LCDR4, LCDR5 и LCDR6, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24, или содержит последовательность, которая отличается не более чем 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотами от аминокислот из SEQ ID NO: 22, 23 и/или 24. В **Таблице 5** представлены аминокислотные последовательности VH1, VH2, VL1, VL2, HCDR1, HCDR2, HCDR3, HCDR4, HCDR5, HCDR6, LCDR1, LCDR2, LCDR3, LCDR4, LCDR5 и LCDR6.

[000239] Согласно некоторым примерным вариантам реализации HCDR1, HCDR2, HCDR3, HCDR4, HCDR5, HCDR6, LCDR1, LCDR2, LCDR3, LCDR4, LCDR5 и LCDR6 содержат аминокислотную последовательность, которая отличается не более чем 5 аминокислотными остатками от аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16-21.

Таблица 5. Аминокислотные последовательности переменных доменов и CDR гуманизованного бипаратопного антитела к C5aR1 (c2137-e1711)

HCDR1	NYWMH (SEQ ID NO: 6)
HCDR2	YLNPSGTYTKYAQKFQG (SEQ ID NO: 7)
HCDR3	SGGDNYGNPYYFDR (SEQ ID NO: 8)
HCDR4	AYAMS (SEQ ID NO: 18)
HCDR5	SISTGGNTYYADSVKG (SEQ ID NO: 19)
HCDR6	GYQRFSGFAY (SEQ ID NO: 20)
LCDR1	RASQSIVHSNGNTYLH (SEQ ID NO: 9)
LCDR2	KVSNRFS (SEQ ID NO: 10)
LCDR3	AQSTLVPLT (SEQ ID NO: 21)
LCDR4	RSSQSLVHSNGNTYLN (SEQ ID NO: 22)
LCDR5	KVSNRLS (SEQ ID NO: 23)

LCDR6

SQSTHVPYT (SEQ ID NO: 24)

[000240] Согласно некоторым примерным вариантам реализации вариабельная область бипаратопного антитела содержит вариабельную область 1, причем указанная вариабельная область 1 содержит VH1 и VL1, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17, соответственно. Согласно некоторым вариантам реализации вариабельная область 1 содержит последовательность, которая на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности VH1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16. Согласно некоторым вариантам реализации вариабельная область 1 содержит последовательность, которая на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности VL1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

[000241] Согласно некоторым примерным вариантам реализации вариабельная область бипаратопного антитела содержит вариабельную область 2, причем указанная вариабельная область 2 содержит VH2, содержащую SEQ ID NO: 14, и VL2, содержащую SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации вариабельная область 2 содержит последовательность, которая на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности VH2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации вариабельная область 2 содержит последовательность, которая на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности VL2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15.

[000242] Согласно некоторым примерным вариантам реализации VH1 содержит три HCDR, HCDR1, HCDR2 и HCDR3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 20, или содержит последовательность, которая отличается не более чем 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотами от аминокислот из SEQ ID NO: 18, 19 и/или 20.

[000243] Согласно некоторым примерным вариантам реализации VH2 содержит три HCDR, HCDR4, HCDR5 и HCDR6, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, или содержит последовательность, которая отличается не более чем 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотами от аминокислот из SEQ ID NO: 6, 7 и/или 8.

[000244] Согласно некоторым примерным вариантам реализации VL1 содержит три LCDR, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 и SEQ ID NO: 24, или содержит последовательность, которая

отличается не более чем 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотами от аминокислот из SEQ ID NO: 22, 23 и/или 24.

[000245] Согласно некоторым примерным вариантам реализации VL2 содержит три LCDR, LCDR4, LCDR5 и LCDR6, содержащих аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 21, или содержит последовательность, которая отличается не более чем 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотами от аминокислот из SEQ ID NO: 9, 10 и/или 21. В **Таблице 5** представлены аминокислотные последовательности VH1, VH2, VL1, VL2, HCDR1, HCDR2, HCDR3, HCDR4, HCDR5, HCDR6, LCDR1, LCDR2, LCDR3, LCDR4, LCDR5 и LCDR6.

[000246] Согласно некоторым примерным вариантам реализации HCDR1, HCDR2, HCDR3, HCDR4, HCDR5, HCDR6, LCDR1, LCDR2, LCDR3, LCDR4, LCDR5 и LCDR6 содержат аминокислотную последовательность, которая отличается не более чем 5 аминокислотными остатками от аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16-21.

[000247] Согласно некоторым примерным вариантам реализации переменная область бипаратопного антитела содержит переменную область 1, причем указанная переменная область 1 содержит VH1 и VL1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 25, соответственно. Согласно некоторым вариантам реализации переменная область 1 содержит последовательность, которая на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности VH1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации переменная область 1 содержит последовательность, которая на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности VL1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25.

[000248] Согласно некоторым примерным вариантам реализации переменная область бипаратопного антитела содержит переменную область 2, причем указанная переменная область 2 содержит VH2 и VL2, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17, соответственно. Согласно некоторым вариантам реализации переменная область 2 содержит последовательность, которая на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности VH2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16. Согласно некоторым вариантам реализации переменная область 2 содержит последовательность, которая на 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности VL2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

[000249] Согласно некоторым примерным вариантам реализации бипаратопное антитело, содержащее VH1, имеющую SEQ ID NO: 14, VL1, имеющую SEQ ID NO: 25, VH2, имеющую SEQ ID NO: 16, и VL2, имеющую SEQ ID NO: 17, называется с2139-e1711.

[000250] Согласно некоторым примерным вариантам реализации примерное бипаратопное антитело, связывающее C5aR1, связывает один или более из аминокислотных остатков T8 (треонин 8), D10 (аспартат 10), Y11 (тирозин 11), Y14 (тирозин 14) и/или D15 (аспартат 15) в SEQ ID NO: 38.

[000251] Согласно некоторым примерным вариантам реализации примерное бипаратопное антитело, связывающее C5aR1, связывается с аминокислотными остатками R175-G189 в SEQ ID NO: 38.

[000252] Согласно некоторым примерным вариантам реализации примерное бипаратопное антитело, связывающее C5aR1, связывается с аминокислотными остатками E180-P183 в SEQ ID NO: 38.

[000253] Согласно некоторым примерным вариантам реализации примерное бипаратопное антитело, связывающее C5aR1, связывается с аминокислотными остатками E180-P184 в SEQ ID NO: 38.

[000254] Согласно некоторым примерным вариантам реализации примерное бипаратопное антитело, связывающее C5aR1, связывается с аминокислотными остатками E178-P183 в SEQ ID NO: 38.

[000255] Согласно некоторым вариантам реализации примерное бипаратопное антитело к C5aR1 ингибирует передачу сигналов с участием β -аррестина.

[000256] Согласно некоторым вариантам реализации примерное бипаратопное антитело к C5aR1 ингибирует продуцирование АФК в нейтрофилах.

[000257] Согласно некоторым вариантам реализации примерное бипаратопное антитело к C5aR1 интернализуется. Согласно некоторым вариантам реализации интернализация занимает по меньшей мере 6 часов. Согласно некоторым вариантам реализации интернализация занимает по меньшей мере 12 часов. Согласно некоторым вариантам реализации интернализация занимает менее 6 часов.

[000258] Согласно некоторым примерным вариантам реализации моноспецифичные и бипаратопные антитела можно модифицировать или мутировать для повышения термической стабильности антитела. Термическую стабильность антител можно оценить путем определения температуры начала агрегации. Одним из способов повышения стабильности антитела является повышение средней точки теплового перехода (T_m), измеренной с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC). В целом, T_m белка коррелирует с его стабильностью и обратно коррелирует с его восприимчивостью

к разворачиванию и денатурации в растворе и процессами деградации, которые зависят от склонности белка к разворачиванию. В ряде исследований обнаружена корреляция между ранжированием физической стабильности составов, измеренной как термическая стабильность с помощью DSC, и физической стабильностью, измеренной с помощью других методов (Maa et al. (1996) *Int. J. Pharm.* 140: 155-68; Remmele et al. (1997) *Pharm. Res.* 15: 200-8; Gupta et al. (2003) *AAPS PharmSci.* 5E8: 2003; Bedu-Addo et al. (2004) *Pharm. Res.* 21: 1353-61; Zhang et al. (2004) *J. Pharm. Sci.* 93: 3076-89). Исследования состава позволяют предположить, что T_m Fab имеет значение для длительной физической стабильности соответствующего МАТ.

[000259] Согласно некоторым примерным вариантам реализации стратегическое введение дисульфидных связей может стабилизировать мономерные и мультисубъединичные белки, может играть роль в повышении термической стабильности антител.

[000260] Согласно некоторым примерным вариантам реализации стратегическое введение π -стекинговых взаимодействий с ароматическими аминокислотами (АА), такими как триптофан (TRP), тирозин (TYR), фенилаланин (PHE) и гистидин (HIS), играет роль в повышении термической стабильности антител.

[000261] Согласно некоторым вариантам реализации стратегическое введение солевых мостиков, возникающих между боковыми цепями аминокислот с противоположными положительными или отрицательными полными электронными зарядами, а именно (при нейтральном pH) Glu или Asp в сравнении с Arg или Lys, повышает стабильность белков, в частности, антител.

[000262] Согласно некоторым примерным вариантам реализации моноспецифичное антитело или бипаратопное антитело содержат одну или более модификаций, повышающих термическую стабильность. Согласно некоторым вариантам реализации модификация, повышающая термическую стабильность, представляет собой введение остатка цистеина. Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело содержит цистеин в положении 559 из SEQ ID NO: 12 и в положении 630 из SEQ ID NO: 12 для повышения термической стабильности.

[000263] Согласно некоторым вариантам реализации T_m примерных бипаратопных антител составляет более 65°C. Согласно некоторым вариантам реализации T_m примерных бипаратопных антител составляет более 60°C. T_m примерных бипаратопных антител составляет более 55°C. Согласно некоторым вариантам реализации T_m примерных бипаратопных антител составляет более 50°C.

[000264] Некоторые типы молекул бипаратопных антител получают путем сшивки связывающих сайт I и сайт II доменов или антигенсвязывающих фрагментов с созданием биспецифичных антител. Подходящие сшивающие агенты включают те, которые являются гетеробифункциональными, имеющие две группы с разной реакционной способностью, разделенные подходящим спейсером (например, м-малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимидный сложный эфир) или гомобифункциональными (например, дисукцинимидилсуберат). Такие линкеры доступны от Pierce Chemical Company, Рокфорд, Иллинойс.

[000265] Согласно некоторым вариантам реализации пептидные линкеры применяют для связывания scFv или одноцепочечных антител с доменом Fc из Fab. Несколько примеров подходящих линкеров включают один остаток глицина (G); диглициновый пептид (GG); трипептид (GGG); пептид с четырьмя остатками глицина (GGGG; SEQ ID NO: 26); пептид с пятью остатками глицина (GGGGG; SEQ ID NO: 27); пептид с шестью остатками глицина (GGGGGG; SEQ ID NO: 28); пептид с семью остатками глицина (GGGGGGG; SEQ ID NO: 29); пептид с восемью остатками глицина (GGGGGGGG; SEQ ID NO: 30). Можно использовать другие комбинации аминокислотных остатков, такие как пептид GGGGS (SEQ ID NO: 31), пептид GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 32), пептид GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 33), пептид GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 34), пептид GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 35), QRIEG (SEQ ID NO: 36) и пептид GQPKAAP (SEQ ID NO: 37). Другие подходящие линкеры включают один Ser и остаток Val; дипептид RTQP, SS, TK, SL, TKGPS, TVAAP, QPKAA. Перечисленные выше примеры не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения каким-либо образом, и линкеры, содержащие выбранные случайным образом аминокислоты, выбранные из группы, состоящей из валина, лейцина, изолейцина, серина, треонина, лизина, аргинина, гистидина, аспартата, глутамата, аспарагина, глутамина, глицина и пролина, как было показано, являются подходящими в связывающих белках. Дополнительные описания линкерных последовательностей см., например, в WO2012135345.

[000266] Идентичность и последовательность аминокислотных остатков в линкере могут варьироваться в зависимости от типа вторичного структурного элемента, который необходимо обеспечить в линкере. Например, глицин, серин и аланин лучше всего подходят для линкеров, имеющих максимальную гибкость. Можно применять некоторую комбинацию глицина, пролина, треонина и серина, если необходим более жесткий и удлиненный линкер. Любой аминокислотный остаток можно рассматривать в качестве линкера в комбинации с другими аминокислотными остатками для конструирования более крупных пептидных линкеров, если это необходимо, в зависимости от желаемых свойств.

Дизайн вариантов Fc

[000267] Согласно некоторым аспектам моноспецифичные и мультиспецифичные (включая биспецифичные или бипаратопные) антитела к C5aR1, представленные в настоящем документе, содержат варианты или мутации в области Fc. Согласно некоторым вариантам реализации варианты или мутанты Fc снижают способность к обмену плечами Fab для получения стабильных биспецифичных антител IgG1 или IgG4. (См. Stubenrauch et al., Drug Metabolism and Disposition 38, 84-91 (2010)). Согласно конкретному варианту реализации домен Fc представляет собой домен Fc IgG1. Согласно другому варианту реализации домен Fc представляет собой домен Fc IgG4. Согласно более конкретному варианту реализации домен Fc представляет собой домен Fc IgG4, содержащий аминокислотную замену в положении S228 (нумерация Kabat), в частности, аминокислотную замену S228P.

[000268] Согласно некоторым вариантам реализации область Fc содержит область Fc человеческого IgG4, содержащую одну или более мутаций, выбранных из группы, состоящей из мутаций S228P, L234V, L235A, G237A, D265G, A330S, P331S, L328R, H268A и N297Q (обозначенных в соответствии с Kabat, et al. (1991)). В некоторых случаях вариант Fc человеческого IgG4 имеет в общей сложности до 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 мутации(й) по сравнению с последовательностью человеческого IgG4 дикого типа. Согласно одному варианту реализации область Fc содержит мутации F234V, L235E и D265G. Согласно некоторым вариантам реализации область Fc содержит мутации F234V, L235E, D265G и S228P.

[000269] Согласно некоторым вариантам реализации вариант Fc характеризуется сниженным связыванием с рецептором Fc субъекта по сравнению с областью Fc человеческого IgG дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации вариант Fc характеризуется аблированным связыванием с рецептором Fc субъекта по сравнению с областью Fc человеческого IgG дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации вариант Fc характеризуется сниженным фагоцитозом по сравнению с областью Fc человеческого IgG дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации вариант Fc характеризуется аблированным фагоцитозом по сравнению с областью Fc человеческого IgG дикого типа.

[000270] Антителозависимая клеточно-опосредуемая цитотоксичность, которая также упоминается в настоящем документе как АЗКЦ, относится к форме цитотоксичности, при которой секретируемый Ig связан на рецепторах Fc (FcR), присутствующих на определенных цитотоксических клетках (например, естественных клетках-киллерах (NK) и нейтрофилах), что обеспечивает специфичное связывание этих цитотоксических

эффекторных клеток с несущей антиген клеткой-мишенью и последующее уничтожение клетки-мишени. Антителозависимый клеточно-опосредуемый фагоцитоз, который также упоминается в настоящем документе как АЗКФ, относится к форме цитотоксичности, при которой секретируемый Ig связан на рецепторах Fc (FcR), присутствующих на определенных фагоцитарных клетках (например, макрофагах), что обеспечивает специфичное связывание этих фагоцитарных эффекторных клеток с несущей антиген клеткой-мишенью и впоследствии поглощение и переваривание клетки-мишени. Лиганд-специфичные высокоаффинные антитела IgG, направленные к поверхности клеток-мишеней, могут стимулировать цитотоксические или фагоцитарные клетки и могут быть применены для такого уничтожения. Согласно некоторым вариантам реализации полипептидные конструкции, содержащие вариант Fc, описанный в настоящем документе, характеризуются сниженной АЗКЦ или АЗКФ по сравнению с полипептидной конструкцией, содержащей область Fc дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации полипептидные конструкции, содержащие вариант Fc, описанный в настоящем документе, характеризуются по меньшей мере 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или большим снижением АЗКЦ или АЗКФ по сравнению с полипептидной конструкцией, содержащей область Fc дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации антитела, содержащие вариант Fc, описанный в настоящем документе, характеризуются аблированной АЗКЦ или АЗКФ по сравнению с полипептидной конструкцией, содержащей область Fc дикого типа.

[000271] Согласно некоторым вариантам реализации вариант Fc характеризуется сниженным связыванием с рецептором Fc субъекта по сравнению с областью Fc человеческого IgG дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации вариант Fc характеризуется аблированным связыванием с рецептором Fc субъекта по сравнению с областью Fc человеческого IgG дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации вариант Fc характеризуется сниженным фагоцитозом по сравнению с областью Fc человеческого IgG дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации вариант Fc характеризуется аблированным фагоцитозом по сравнению с областью Fc человеческого IgG дикого типа.

[000272] Антителозависимая клеточно-опосредуемая цитотоксичность, которая также упоминается в настоящем документе как АЗКЦ, относится к форме цитотоксичности, при которой секретируемый Ig связан на рецепторах Fc (FcR), присутствующих на определенных цитотоксических клетках (например, естественных клетках-киллерах (NK) и нейтрофилах), что обеспечивает специфичное связывание этих цитотоксических эффекторных клеток с несущей антиген клеткой-мишенью и последующее уничтожение

клетки-мишени. Антителозависимый клеточно-опосредуемый фагоцитоз, который также упоминается в настоящем документе как АЗКФ, относится к форме цитотоксичности, при которой секретируемый Ig связан на рецепторах Fc (FcR, например, FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa и/или FcγRIIIb), присутствующих на определенных фагоцитарных клетках (например, макрофагах), что обеспечивает специфичное связывание этих фагоцитарных эффекторных клеток с несущей антиген клеткой-мишенью и впоследствии поглощение и переваривание клетки-мишени. Лиганд-специфичные высокоаффинные антитела IgG, направленные к поверхности клеток-мишеней, могут стимулировать цитотоксические или фагоцитарные клетки и могут быть применены для такого уничтожения. Согласно некоторым вариантам реализации полипептидные конструкции, содержащие вариант Fc, описанный в настоящем документе, характеризуются сниженной АЗКЦ или АЗКФ по сравнению с полипептидной конструкцией, содержащей область Fc дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации полипептидные конструкции, содержащие вариант Fc, описанный в настоящем документе, характеризуются по меньшей мере 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или большим снижением АЗКЦ или АЗКФ по сравнению с полипептидной конструкцией, содержащей область Fc дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации антитела, содержащие вариант Fc, описанный в настоящем документе, характеризуются аблированной АЗКЦ или АЗКФ по сравнению с полипептидной конструкцией, содержащей область Fc дикого типа.

[000273] Примерные моноспецифичные антитела, связывающие сайт II (SEQ ID NO: 3), содержащие варианты Fc, также упоминаются в настоящем изобретении как c2139-Fc_{mod}. Примерное бипаратопное антитело, содержащее варианты Fc, также упоминается в настоящем изобретении как c2137-e1711-Fc_{mod}. Последовательности моноспецифичного и бипаратопного антитела, содержащего варианты Fc, изложены в **Таблице 6**.

Таблица 6 – Последовательности Fc-модифицированных примерных моноспецифичных и бипаратопных антител.

Тяжелая цепь	Легкая цепь
<i>c2139-Fc_{mod}</i>	
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG	DVQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI
YFTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGYL	VHNSNGNTYLHWYQQKPGKAPKFLIYKVS
NPSSGYTKYAQKFQGRVTMTRDTSTST	NRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
VYMELSSLRSEDTAVYYCTRSGGDNYG	FATYYCAQYTLVPLTFGQGKLEIKRTVA
NPYYFDRWGQGTTVTVSSASTKGPSVF	APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV	REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS

<p>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPPCPAPEVEGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVGVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 69)</p>	<p>KDSTYLSSTLTLTKADYKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 70)</p>
<i>c2137-F_{mod}</i>	
<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YFTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGYL NPSSGYTKYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMESSLRSEDTAVYYCTRSGGDNYG NPYYFDRWGQGTITVTVSSASTKGPSVF PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPPCPAPEVEGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVGVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 69)</p>	<p>DVQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI VHSNGNTYLHWYQQKPGKAPKFLIYKVS NRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED FATYYCAQSTLVPLTFGGQTKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLTKADYKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 79)</p>
<i>e1711-F_{mod}</i>	
<p>EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFT FNAYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISTG</p>	<p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQSLV HSNGNTYLNWYQQKPGQAPRLLIYKVS</p>

<p>GNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCTR GYQRFSGFAY WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNV D HKPSNTKVDKRVE SKYGPPCPPCPAPEVEGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTP E VTCV VVGVSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKNG LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKLSLSLGLK (SEQ ID NO: 80)</p>	<p>RLSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCSQSTHVPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 81)</p>
<p><i>c2137-e1711-F.mod</i></p>	
<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGY TFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGYLNP SSGYTKYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSEDTAVYYCTRSGGDNYGNPYY FDRWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNV D HKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEVEGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTP E VTCV VVGVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGGGG GSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQS LVHSNGNTYLNWYQQKPGQAPRLLIYKV</p>	<p>DVQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQS IVHSNGNTYLHWYQQKPGKAPKFLIYK VSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCAQSTLVPLTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 72)</p>

<p>SNRLSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPED FAVYYCSQSTHVPYTFGCGTKLEIKGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGL IQPGGSLRLSCAASGFTFNAYAMSWVRQ APGKCLEWVSSISTGGNTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC TRGYQRFSGFAYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 71)</p>	
<i>c2139-e1711-F_{mod}</i>	
<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGY TFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGYLNP SSGYTKYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSED TAVYYCTRSGGDNYGNPYY FDRWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEVEGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCV VVGVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGGG GSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQS LVHSNGNTYLNWYQQKPGQAPRLLIYKV SNRLSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPED FAVYYCSQSTHVPYTFGCGTKLEIKGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGL IQPGGSLRLSCAASGFTFNAYAMSWVRQ APGKCLEWVSSISTGGNTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC</p>	<p>DVQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQS IVHSNGNTYLHWYQQKPGKAPKFLIYK VSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCAQYTLVPLTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 82)</p>

TRGYQRFSGFAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 71)	
<i>Варибельная область</i>	
<i>VL c2139-F_cmod</i>	<i>VH c2139-F_cmod</i>
DVQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI VHNSGNTYLHWYQQKPGKAPKFLIYKVS NRFSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSLQPED FATYYCAQYTLVPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 73)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGYL NPSSGYTKYAQKFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDTAVYYCTRSGGDNYG NPYYFDRWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 74)

[000274] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичное антитело к C5aR1 содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 69.

[000275] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичное антитело к C5aR1 содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, имеющую по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 70.

[000276] Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело к C5aR1 содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 71.

[000277] Согласно некоторым вариантам реализации бипаратопное антитело к C5aR1 содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 72.

[000278] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичное антитело к C5aR1 содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, имеющую по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 79.

[000279] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичное антитело к C5aR1 содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, имеющую по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 81.

[000280] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичное антитело к C5aR1 содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, имеющую по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 82.

Применение моноспецифичных и бипаратопных антагонистов C5aR1 для лечения заболеваний

[000281] В настоящем документе описаны способы лечения заболевания, связанного с дисфункциями оси C5a/C5aR1. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичные и/или бипаратопные антитела к C5aR1, описанные в настоящем документе, подходят для лечения субъекта, у которого имеется дисфункция, связанная с осью C5a/C5aR1, такая как АНЦА-связанный васкулит.

[000282] Примерные нарушения или состояния, которые можно лечить или предотвращать с помощью молекул антител, описанных в настоящем документе, включают, но не ограничиваются перечисленными, C5aR1-связанное нарушение или C5-связанное нарушение. Согласно варианту реализации нарушение связано с привлечением, активацией и/или НЕТозом нейтрофилов. Согласно варианту реализации нарушение связано с активацией системы комплемента и/или активацией системы коагуляции. Согласно варианту реализации нарушение связано с C5aR-опосредуемым воспалительным ответом. Согласно варианту реализации нарушение связано с моноцитарным хемоаттрактантным белком-1 (MCP-1) и/или воспалением почек. Согласно варианту реализации нарушение связано с хемотаксисом (например, праймингом хемотаксиса). Согласно варианту реализации нарушение связано с повреждением эндотелия.

[000283] Способ лечения включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, антител, описанных в настоящем документе. Согласно варианту реализации примерные нарушения, например, C5aR1-связанное нарушение, можно лечить с помощью антитела, способного связывать один или более аминокислотных остатков C5aR1 в сайте II (SEQ ID NO: 3).

[000284] Согласно варианту реализации примерные нарушения, например, C5aR1-связанное нарушение, можно лечить с применением антитела, способного конкурировать со связыванием антитела с C5aR1 в сайте I (SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2) или в сайте II (SEQ ID NO: 3).

[000285] Согласно варианту реализации примерные нарушения, например, C5aR1-связанное нарушение, можно лечить с применением антитела, способного конкурировать со связыванием антитела с C5aR1 в сайте I (SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2) и в сайте II (SEQ ID NO: 3).

[000286] Моноспецифичные и/или бипаратопные антитела, описанные в настоящем документе, можно применять для лечения любого заболевания, связанного с дисфункцией, связанной с осью C5a/C5aR1.

[000287] Согласно некоторым вариантам реализации примерные нарушения, например, C5aR1-связанное нарушение, можно лечить с помощью моноспецифичного или бипаратопного антитела, способного связываться с C5aR1, причем указанное антитело связывает C5aR1 с аффинностью от 10 пМ до 50 нМ.

[000288] Согласно некоторым вариантам реализации антитела можно вводить субъекту, нуждающемуся в этом, внутривенно, подкожно, внутрикожно или внутримышечно.

[000289] Согласно некоторым вариантам реализации нуклеиновую кислоту, кодирующую моноспецифичные или бипаратопные антитела, описанные в настоящем документе, можно вводить субъекту, нуждающемуся в этом, с применением подходящего способа доставки. В литературе известно несколько способов доставки нуклеиновых кислот. Например, рААВ-вектор, кодирующий моноспецифичные или бипаратопные антитела, описанные в настоящем документе, можно вводить субъекту с помощью внутривенного, внутрибрюшинного, подкожного или внутрикожного пути введения. Согласно некоторым вариантам реализации доставка нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело, может быть достигнута с помощью генной пушки («gene gun»), биолистической системы доставки частиц или невирусной липидной наночастицы.

[000290] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичные или бипаратопные антитела, описанные в настоящем документе, можно вводить субъекту, нуждающемуся в этом, в комбинации с дополнительным терапевтическим средством. Согласно некоторым вариантам реализации дополнительное терапевтическое средство представляет собой малую молекулу, такую как авакопан, кортикостероиды или иммуносупрессивные лекарственные средства. Примерные кортикостероиды включают, но не ограничиваются перечисленными, преднизолон, гидрокортизон, преднизон, дексаметазон или кортизон. Примерные иммуносупрессивные лекарственные средства включают, но не ограничиваются перечисленными, метотрексат, азатиоприн, микофенолата мофетил или циклофосфамид.

[000291] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичные или бипаратопные антитела, описанные в настоящем документе, превосходят монотерапию авакопаном в облегчении нейтропении *in vivo*.

[000292] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичные или бипаратопные антитела, описанные в настоящем документе, превосходят авакопан в

оказании антагонистического действия на C5aR1 в присутствии 100 нМ или более высоких концентраций C5a.

[000293] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичные или бипаратопные антитела, описанные в настоящем документе, превосходят авакопан в ингибировании передачи сигналов с участием *Ga in vitro*.

[000294] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичные или бипаратопные антитела, описанные в настоящем документе, превосходят авакопан в ингибировании передачи сигналов с участием кальция *in vitro* и *in vivo*.

[000295] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичные или бипаратопные антитела, описанные в настоящем документе, превосходят авакопан в ингибировании хемотаксиса нейтрофилов *in vitro* и *in vivo*.

[000296] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичные или бипаратопные антитела, описанные в настоящем документе, являются стабильными в сыворотке крови до 500 часов после инъекции.

[000297] Согласно некоторым вариантам реализации моноспецифичные или бипаратопные антитела, описанные в настоящем документе, превосходят авакопан в ингибировании экспрессии CD11b *in vitro* и *in vivo*.

Нуклеиновые кислоты, векторы и способы изготовления

[000298] Согласно настоящему изобретению также предложены нуклеиновые кислоты, содержащие нуклеотидные последовательности, которые кодируют молекулы антител (например, переменные области тяжелой и легкой цепей и CDR молекул антител), описанные в настоящем документе.

[000299] Например, согласно настоящему изобретению предложена первая и вторая нуклеиновая кислота, кодирующая переменные области тяжелой и легкой цепей, соответственно, молекулы антитела, выбранной из одной или более молекул антител, раскрытых в настоящем документе, например, молекулы антитела из Таблицы 1С, или части молекулы антитела, например, переменные области любого из антител, раскрытых в настоящем документе. Нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую любую из аминокислотных последовательностей в Таблицах в настоящем документе, или последовательность, по существу идентичную указанным последовательностям (например, последовательность, которая по меньшей мере примерно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентична указанным последовательностям, или которая отличается не более чем 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидами от последовательностей, показанных в Таблицах в настоящем документе).

[000300] Согласно определенным вариантам реализации нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере один, два или три CDR из вариабельной области тяжелой цепи, имеющих аминокислотную последовательность, изложенную в Таблицах в настоящем документе, или последовательность, по существу гомологичную указанной последовательности (например, последовательность, которая по меньшей мере примерно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентична указанной последовательности, и/или имеющая одну или более замен, например, консервативных замен). Согласно варианту реализации нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере один, два или три CDR из вариабельной области легкой цепи, имеющих аминокислотную последовательность, изложенную в Таблицах в настоящем документе, или последовательность, по существу гомологичную указанной последовательности (например, последовательность, которая по меньшей мере примерно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентична указанной последовательности, и/или имеющая одну или более замен, например, консервативных замен). Согласно варианту реализации нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть CDR из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей, имеющих аминокислотную последовательность, изложенную в Таблицах в настоящем документе, или последовательность, по существу гомологичную указанной последовательности (например, последовательность, которая по меньшей мере примерно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентична указанной последовательности, и/или имеющая одну или более замен, например, консервативных замен).

[000301] Нуклеиновые кислоты, раскрытые в настоящем документе, включают дезоксирибонуклеотиды или рибонуклеотиды или их аналоги. Полинуклеотид может быть либо одноцепочечным, либо двухцепочечным, и одноцепочечный полинуклеотид может представлять собой кодирующую цепь или не кодирующую (антисмысловую) цепь. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и аналоги нуклеотидов. Последовательность нуклеотидов может быть прервана ненуклеотидными компонентами. Полинуклеотид можно дополнительно модифицировать после полимеризации, например, путем конъюгации с меченым компонентом. Нуклеиновая кислота может представлять собой рекомбинантный полинуклеотид или полинуклеотид геномного, кДНК, полусинтетического или синтетического происхождения, который либо не встречается в природе, либо связан с другим полинуклеотидом в неприродной группировке.

[000302] Согласно некоторым аспектам в заявке предусмотрены клетки-хозяева и векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, описанные в настоящем документе. Нуклеиновые кислоты могут присутствовать в одном векторе или отдельных векторах, присутствующих в одной и той же клетке-хозяине или в отдельной клетке-хозяине, как более подробно описано ниже.

Векторы

[000303] Согласно настоящему изобретению также предложены векторы, которые содержат нуклеотидные последовательности, кодирующие молекулы антител (например, переменные области тяжелой и легкой цепей и CDR молекул антител), описанные в настоящем документе.

[000304] Согласно варианту реализации вектор содержит нуклеиновую кислоту, описанную в настоящем документе. Например, вектор может содержать первую и вторую нуклеиновую кислоту, кодирующую переменные области тяжелой и легкой цепей, соответственно, молекулы антитела, выбранной из одной или более молекул антител, раскрытых в настоящем документе, например, молекулы антитела, описанной в настоящем документе, или части молекулы антитела, например, переменные области из любой из Таблиц 1-4.

[000305] Согласно определенным вариантам реализации вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере один, два или три CDR из переменной области тяжелой цепи, имеющих аминокислотную последовательность, изложенную в Таблицах в настоящем документе, или последовательность, по существу гомологичную указанной последовательности (например, последовательность, которая по меньшей мере примерно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентична указанной последовательности, и/или имеющая одну или более замен, например, консервативных замен). Согласно варианту реализации вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере один, два или три CDR из переменной области легкой цепи, имеющих аминокислотную последовательность, изложенную в Таблицах в настоящем документе, или последовательность, по существу гомологичную указанной последовательности (например, последовательность, которая по меньшей мере примерно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентична указанной последовательности, и/или имеющая одну или более замен, например, консервативных замен). Согласно варианту реализации вектор содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть CDR из переменных областей тяжелой и легкой цепей, имеющих аминокислотную последовательность, изложенную в Таблицах в настоящем документе, или

последовательность, по существу гомологичную указанной последовательности (например, последовательность, которая по меньшей мере примерно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентична указанной последовательности, и/или имеющая одну или более замен, например, консервативных замен).

[000306] Векторы включают, но не ограничиваются перечисленными, вирус, плазмиду, космиду, фаг лямбда или искусственную хромосому дрожжей (YAC). Могут применяться многочисленные векторные системы. Например, в одном классе векторов используются элементы ДНК, полученные из вирусов животных, таких как, например, вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус полиомы, аденовирус, вирус осповакцины, бакуловирус, ретровирусы (вирус саркомы Рауса, MMTV или MOMLV) или вирус SV40. В другом классе векторов используются элементы РНК, полученные из РНК-вирусов, таких как вирус леса Семлики, вирус восточного конского энцефалита и флавивирусы.

[000307] Кроме того, клетки, которые стабильно интегрировали ДНК в свои хромосомы, могут быть отобраны путем введения одного или более маркеров, позволяющих проводить отбор трансфицированных клеток-хозяев. Маркер может обеспечивать, например, прототрофию ауксотрофному хозяину, устойчивость к биоцидным агентам (например, антибиотикам) или устойчивость к тяжелым металлам, таким как медь, и т.п. Селективный маркерный ген может быть либо непосредственно связан с последовательностями ДНК, подлежащими экспрессии, либо введен в ту же клетку путем котрансформации. Дополнительные элементы также могут быть необходимы для оптимального синтеза мРНК. Эти элементы могут включать сигналы сплайсинга, а также транскрипционные промоторы, энхансеры и сигналы терминации.

[000308] После подготовки вектора экспрессии или последовательности ДНК, содержащей конструкции, для экспрессии векторы экспрессии могут быть трансфицированы или введены в соответствующую клетку-хозяина. Для достижения этого могут применяться различные методики, такие как, например, слияние протопластов, осаждение фосфатом кальция, электропорация, ретровирусная трансдукция, вирусная трансфекция, генная пушка, трансфекция на основе липидов или другие обычные методики. В случае слияния протопластов клетки выращивают в среде и подвергают скринингу на предмет соответствующей активности.

[000309] Способы и условия культивирования полученных трансфицированных клеток и выделения полученной молекулы антитела известны специалистам в данной области техники и могут варьироваться или оптимизироваться в зависимости от

конкретного используемого вектора экспрессии и клетки-хозяина млекопитающего на основе настоящего описания.

Клетки

[000310] Согласно настоящему изобретению также предложены клетки (например, клетки-хозяева), содержащие нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу антитела, описанную в настоящем документе. Например, клетки-хозяева могут содержать молекулу нуклеиновой кислоты, имеющую нуклеотидную последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, описанную в любой из Таблиц 1-5, последовательность, по существу гомологичную указанной последовательности (например, последовательность, которая по меньшей мере примерно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентична указанной последовательности, и/или способную гибридизироваться в условиях жесткости, описанных в настоящем документе), или часть одной из указанных нуклеиновых кислот.

[000311] Согласно варианту реализации клетки-хозяева генетически сконструированы таким образом, чтобы они содержали нуклеиновые кислоты, кодирующие молекулу антитела, описанную в настоящем документе.

[000312] Согласно определенным вариантам реализации клетки-хозяева генетически сконструированы с использованием экспрессионной кассеты. Выражение «экспрессионная кассета» относится к нуклеотидным последовательностям, которые способны влиять на экспрессию гена у хозяев, совместимых с такими последовательностями. Такие кассеты могут включать промотор, открытую рамку считывания с интронами или без них и сигнал терминации. Также могут быть использованы дополнительные факторы, необходимые или полезные для осуществления экспрессии, такие как, например, индуцируемый промотор.

[000313] Согласно настоящему изобретению также предложены клетки-хозяева, содержащие векторы, описанные в настоящем документе.

[000314] Клетка может представлять собой, но не ограничивается ими, эукариотическую клетку, бактериальную клетку, клетку насекомого или клетку человека. Подходящие эукариотические клетки включают, но не ограничиваются ими, клетки Vero, клетки HeLa, клетки COS, клетки CHO, клетки HEK293, клетки ВНК и клетки MDCKII. Подходящие клетки насекомых включают, но не ограничиваются ими, клетки *Sf9*. Согласно одному варианту реализации клетка (например, клетка-хозяин) представляет собой выделенную клетку.

Способы введения

[000315] Композиции согласно настоящему изобретению могут быть изготовлены в любой подходящей форме, такой как жидкие, полутвердые и твердые лекарственные

формы, такие как жидкие растворы (например, инъекционные и инфузируемые растворы), дисперсии или суспензии и т. п. Оптимальная форма для любой композиции зависит от предполагаемого способа введения, свойств композиции или комбинации и терапевтического применения или другого предполагаемого применения. Типичный способ доставки композиции согласно настоящему изобретению представляет собой парентеральное введение (например, внутривенное введение). Согласно одному аспекту композицию согласно настоящему изобретению вводят пациенту-человеку посредством внутривенной инфузии или инъекции.

[000316] Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения предложены композиции, например, фармацевтически приемлемые композиции, которые включают молекулу антитела, описанную в настоящем документе, изготовленную с фармацевтически приемлемым носителем. В настоящем документе «фармацевтически приемлемый носитель» включает любые и все растворители, дисперсионные среды, изотонические агенты и замедляющие всасывание агенты и т. п., которые являются физиологически совместимыми. Носитель может быть подходящим для внутривенного, внутримышечного, подкожного, парентерального, ректального, спинального или эпидермального введения (например, путем инъекции или инфузии).

[000317] Выращения «парентеральное введение» и «введенный парентерально» в контексте настоящего документа означают способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно путем инъекции, и включают, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрикапсулярную, внутриглазничную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, подкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, внутриспинальную, эпидуральную и внутригрудинную инъекцию и инфузию. Терапевтические композиции, как правило, должны быть стерильными и стабильными в условиях изготовления и хранения. Композиция может быть изготовлена в виде раствора, микроэмульсии, дисперсии, липосомы или другой упорядоченной структуры, подходящей для высокой концентрации антитела. Стерильные инъекционные растворы могут быть приготовлены путем включения активного соединения (т.е. антитела или части антитела) в необходимом количестве в соответствующем растворителе с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, при необходимости, с последующей стерилизацией путем фильтрации. Обычно дисперсии готовят путем включения активного соединения в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных инъекционных растворов предпочтительными методами

приготовления являются методы вакуумной сушки и сублимационной сушки, которые дают порошок активного ингредиента плюс любого дополнительного желаемого ингредиента из его раствора, предварительно стерилизованного фильтрованием. Подходящую текучесть раствора можно поддерживать, например, за счет использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и за счет использования поверхностно-активных веществ. Пролонгированное всасывание инъекционных композиций может быть обеспечено включением в композицию агента, который замедляет всасывание, например, моностеаратных солей и желатина. Молекулы антител, описанные в настоящем документе, можно вводить с помощью ряда способов. Некоторые из них известны в данной области техники, и для многих терапевтических, профилактических или диагностических приложений подходящим путем/способом введения является внутривенная инъекция или инфузия. Специалист в данной области техники поймет, что путь и/или способ введения будет варьироваться в зависимости от желаемых результатов.

ПРИМЕРЫ

[000318] Другие признаки, задачи и преимущества настоящего изобретения будут понятны из следующих примеров. Однако следует понимать, что примеры, хотя в них и указаны варианты реализации настоящего изобретения, приведены исключительно в целях иллюстрации, а не ограничения. Различные изменения и модификации в пределах объема настоящего изобретения будут понятны специалистам в данной области техники из примеров.

Пример 1. Кинетические анализы антагонистических гуманизированных антител к C5aR1

[000319] В данном примере описана аффинность и специфичность связывания моноспецифичного антитела к сайту II и бипаратопных антител, описанных в настоящем документе, с C5aR1 и C5aR2.

(a) Аффинность связывания

[000320] Аффинность связывания антител с целевым рецептором C5aR1 определяли с помощью анализа ИФА. VLP C5aR1 иммобилизовали на планшете MaxiSorp для ИФА в концентрации 30 мкг/мл и инкубировали в течение ночи при 4°C. На следующее утро планшеты промывали 3 раза 1х ФСБ, и планшеты блокировали в течение 30 минут с использованием 100 мкл ФСБА (1х ФСБ с 3% БСА). Серийное титрование антитела к C5aR1 выполняли в присутствии ФСБА и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшеты промывали 6 раз ФСБА. ПХ-конъюгированное антитело к белку человека разбавляли в ФСБА, добавляли во все лунки и инкубировали в течение 45 минут

при комнатной температуре. Планшеты промывали 6 раз ФСБ. Субстрат ТМВ добавляли во все лунки и инкубировали в течение 10 минут перед добавлением стоп-раствора (0,1 М серной кислоты). Поглощение при 450 нм измеряли на стандартном считывающем устройстве для планшетов. Аппроксимацию кривой с четырьмя параметрами использовали для получения значения ЭК50 титрования антитела в нМ. Кривые аффинности моноспецифического антитела с2139 и бипаратопного антитела с2137-е1711 проиллюстрированы на **ФИГ. 4А**.

[000321] Наблюдали, что в описанных выше условиях моноспецифичное антитело к С5аR1 связывалось с С5аR1 с аффинностью примерно 0,16 нМ и бипаратопное антитело связывалось с С5аR1 с аффинностью примерно 0,22 нМ.

[000322] В другом условии связывание антитела к сайту II, с2139, и бипаратопного антитела с2137-е1711 из двух различных серий антител анализировали на связывание с клетками U937-С5аR1 (**ФИГ. 4В**) и человеческими нейтрофилами (**ФИГ. 4С**). ЭК50 связывания U937-С5аR1 с различными сериями белков антитела к С5аR1 (с2139 и с2137-е1711) показаны в **Таблице 6**.

Таблица 6. ЭК50 связывания U937-С5аR1 с примерным антителом к С5аR1

Антитело	ЭК50 (нМ)	R-квадрат
с2139 Препарат 1	3,64	0,99
с2139 Препарат 2	3,60	0,99
с2137-е1711 Препарат 1	2,47	0,98
с2137-е1711 Препарат 2	2,25	0,98
мотавизумаб	Связывание отсутствует	н/п

[000323] ЭК50 связывания человеческих нейтрофилов с различными сериями белков антитела к С5аR1 (с2139 и с2137-е1711) показаны в **Таблице 7**.

Таблица 7. ЭК50 связывания человеческих нейтрофилов с примерным антителом к С5аR1

Антитело	ЭК50 (нМ)	R-квадрат
с2139 Препарат 1	1,64	0,99
С2139 Препарат 2	1,66	0,99
с2137-е1711 Препарат 1	1,07	0,99
с2137-е1711 Препарат 2	1,05	0,99
мотавизумаб	Связывание отсутствует	н/п

[000324] В качестве контроля использовали не связывающее C5aR1 антитело мотаивизумаб. Наблюдали, что как антитело к сайту II, c2139, так и бипаратопное антитело c2137-e1711 связывало U937 и человеческие нейтрофилы в нескольких партиях препаратов антител.

(b) Специфичность связывания

[000325] Специфичность антагонистических антител к C5aR1 определяли путем измерения аффинности антител к C5aR1 в отношении C5aR2. VLP C5aR2 иммобилизовали на планшете MaxiSorp для ИФА в концентрации 30 мкг/мл и инкубировали в течение ночи при 4°C. На следующее утро планшеты промывали 3 раза 1х ФСБ, и планшеты блокировали в течение 30 минут с использованием 100 мкл ФСБА (1х ФСБ с 3% БСА). Серийное титрование антитела к C5aR1 выполняли в присутствии ФСБА и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшеты промывали 6 раз ФСБА. ПХ-конъюгированное антитело к белку человека разбавляли в ФСБА, добавляли во все лунки и инкубировали в течение 45 минут при комнатной температуре. Планшеты промывали 6 раз ФСБ. Субстрат ТМВ добавляли во все лунки и инкубировали в течение 10 минут перед добавлением стоп-раствора (0,1 М серной кислоты). Поглощение при 450 нм измеряли на стандартном считывающем устройстве для планшетов. Аппроксимацию кривой с четырьмя параметрами использовали для получения значения ЭК50 титрования антитела в нМ.

[000326] Данные по связыванию моносpezifичного и бипаратопного антитела проиллюстрированы на **ФИГ. 5**. Наблюдали, что в описанных выше условиях примерные антагонистические антитела к C5aR1 не связывали C5aR2. В целом, данные в данном примере показали, что антитела к C5aR1 согласно настоящему изобретению связывают C5aR1 с высокой аффинностью и с неизмеримой аффинностью в отношении C5aR2, это иллюстрирует, что антитела к C5aR1 действительно специфичны в отношении C5aR1.

Пример 2. Ингибирование передачи сигналов с участием Gα

[000327] В данном примере описан функциональный аспект моносpezifичных антител и бипаратопных антител к C5aR1, описанных в настоящем документе, в отношении ингибирования передачи сигналов с участием Gα с использованием анализа GeneBLazer.

[000328] Набор для анализа GeneBLazer и линия клеток C5aR1 были коммерчески доступны от Thermo Fisher (№ по каталогу K1544). Анализ выполняли в соответствии с рекомендациями производителя. В общих чертах, антитела или антагонисты инкубировали в течение 30 минут при повышающихся концентрациях при 37°C. Затем к клеткам добавляли C5a и инкубировали при 37°C в течение дополнительных 4-5 часов. Затем добавляли субстрат бета-лактамазы и инкубировали в течение 2 часов при комнатной температуре. Измеряли флуоресценцию для каждой лунки с возбуждением/испусканием

409/460 (синий) и 409/530 (зеленый). Увеличение соотношения синий/зеленый было пропорционально активации C5aR1 и применялось для расчета процента активации для клеток в каждой лунке. Профиль активации C5aR1 отслеживали при повышающейся концентрации антагониста. ИК50 определяли путем построения графика процента сигнала в зависимости от концентрации антагониста.

[000329] Анализ передачи сигналов с участием Gα моноспецифичного и бипаратопного антитела проиллюстрирован на **ФИГ. 6А** в зависимости от концентрации антитела с 10 нМ C5a. В другом условии, известное антитело к C5aR, контрольное антитело к C5aR1 применяют в качестве положительного контроля для ингибирования передачи сигналов с участием Gα (**ФИГ. 6С**).

[000330] Анализ передачи сигналов с участием Gα моноспецифичного и бипаратопного антитела проиллюстрирован на **ФИГ. 6В** в зависимости от концентрации антитела с 100 нМ C5a. В другом условии, известное антитело к C5aR, контрольное антитело к C5aR1 применяют в качестве положительного контроля для ингибирования передачи сигналов с участием Gα (**ФИГ. 6D**). Наблюдали, что ИК50 моноспецифичного антагониста C5aR1 составила 0,14 нМ с 10 нМ C5a и 0,19 нМ с 100 нМ C5a. ИК50 биспецифичного антагониста C5aR1 составила 0,27 нМ с 10 нМ C5a и 0,28 нМ с 100 нМ C5a. Наблюдали, что примерные антитела сохраняли лучший уровень ингибирования по сравнению с авакопаном и контрольным антителом к C5aR1 при всех протестированных концентрациях C5a.

Пример 3. Ингибирование передачи сигналов с участием кальция

[000331] В данном примере описан функциональный аспект моноспецифичных антител и бипаратопных антител к C5aR1, описанных в настоящем документе, в отношении ингибирования опосредуемой C5a передачи сигналов с участием кальция с использованием анализов потоков кальция.

[000332] Эффективность антител оценивали в отношении их способности ингибировать внутриклеточное высвобождение кальция в C5aR1-экспрессирующих стабильных клетках C5aR1-U937 или нейтрофилах, выделенных из цельной крови, в присутствии C5a. Для детектирования цитозольных изменений концентрации кальция использовали анализы потоков кальция с использованием красителя, чувствительного к кальцию. Клетки инкубировали с этерифицированным (неактивным) красителем, чувствительным к кальцию. Краситель проникал в клеточную мембрану и становился активным внутри клетки. Активная форма красителя становилась флуоресцентной после связывания с внутриклеточным кальцием, и флуоресценцию использовали для определения передачи сигналов с участием C5aR1 в ответ на добавление C5a. В частности, стабильные

C5aR1-U937 или нейтрофилы, выделенные из цельной крови, окрашивали с помощью набора для анализа кальция Fluo-4 Direct от Thermo Fisher в течение 1 часа при 37°C. Затем антитело или антагонист инкубировали с клетками в течение 30 минут. Исходный уровень флуоресценции с возбуждением при 494 нм и испусканием при 516 нм измеряли в течение 15 секунд. C5a добавляли к клеткам и флуоресценцию измеряли в течение четырех минут. Исходное показание перед стимуляцией C5a и максимальный сигнал после стимуляции C5a использовали для расчета соотношения ответов. Анализы потоков кальция выполняли с применением сконструированных клеток, стабильно экспрессирующих C5aR1, а также с применением человеческих нейтрофилов.

[000333] Анализ ингибирования C5a-опосредуемой передачи сигналов с участием кальция моноспецифичного (**ФИГ. 7А**) и бипаратопного антагонистического антитела (**ФИГ. 7В**) проиллюстрирован в виде графика потока кальция в зависимости от концентрации C5a и при повышающейся концентрации антитела. Кроме того, ингибирование C5a-опосредуемой передачи сигналов с участием кальция известным антагонистом C5aR1, авакопаном, проиллюстрировано с применением описанного выше протокола на **ФИГ. 7С**. Наблюдали, что тестируемые антитела превосходили авакопан в ингибировании передачи сигналов с участием кальция.

Пример 4. Ингибирование хемотаксиса нейтрофилов

[000334] В данном примере описан функциональный аспект моноспецифичных антител и бипаратопных антител к C5aR1, описанных в настоящем документе, в отношении ингибирования хемотаксиса нейтрофилов, который, как известно, индуцируется активностью C5aR1, с использованием камеры Бойдена.

[000335] Сначала стабильные клетки C5aR1-U937 высевали в верхнюю камеру 96-луночного планшета Transwell без антитела (антагониста) или в присутствии 1, 10 или 100 нМ каждого антитела (антагониста). Нижняя камера содержала полулогарифмическое титрование C5a (хемотрактанта) в диапазоне от 10^{-6} до $10^{-9.5}$ М. Верхнюю и нижнюю камеры разделяли мембраной. Ожидается, что C5a индуцирует миграцию клеток U937. Однако ожидается, что применение антагониста C5aR1 будет ингибировать данную миграцию. Повышение концентрации примерных антител использовали для определения дозозависимого ингибирования хемотаксиса. Кроме того, повышающуюся концентрацию хемотрактанта (C5a) использовали для определения того, преодолимо ли ингибирование хемотаксиса при использовании высокой концентрации C5a. Одновременно для оценки ингибирования хемотаксиса нейтрофилов и преодолимости хемотаксиса в присутствии избытка C5a также использовали известный ингибитор C5aR1, авакопан.

[000336] Во-вторых, человеческие нейтрофилы высевали в верхнюю камеру 96-луночного планшета Transwell без антитела (антагониста) или в присутствии 1, 10 или 100 нМ каждого антитела (антагониста). Нижняя камера содержала полулогарифмическое титрование C5a (хемоаттрактанта) в диапазоне от 10^{-6} до $10^{-9.5}$ М. Верхнюю и нижнюю камеры разделяли мембраной. Ожидается, что C5a индуцирует миграцию клеток U937. Однако ожидается, что применение антагониста C5aR1 будет ингибировать данную миграцию. Повышение концентрации антител использовали для определения дозозависимого ингибирования хемотаксиса. Кроме того, повышающуюся концентрацию хемоаттрактанта (C5a) использовали для определения того, преодолимо ли ингибирование хемотаксиса при использовании высокой концентрации C5a. Одновременно для оценки ингибирования хемотаксиса нейтрофилов и преодолимости хемотаксиса в присутствии избытка C5a также использовали известный ингибитор C5aR1, авакопан.

[000337] **ФИГ. 8А-8С** показывает величину интенсивности флуоресценции в зависимости от концентрации C5a в присутствии различных концентраций антител к C5aR1, это указывает на ингибирование хемотаксиса антителами к C5aR1. Наблюдали, что антитела к C5aR1 обычно ингибировали хемотаксис клеток дозозависимым образом. Кроме того, было обнаружено, что в отличие от авакопана ингибирование хемотаксиса нейтрофилов антителами к C5aR1 не преодолевалось в присутствии избытка C5a.

Пример 5. Ингибирование экспрессии CD11b

[000338] В данном примере описан функциональный аспект моноспецифичных антител и бипаратопных антител к C5aR1, описанных в настоящем документе, в отношении ингибирования экспрессии CD11b.

[000339] CD11b, рецептор интегрина, мобилизуется на поверхность нейтрофилов в ответ на активацию C5a и опосредует внутрисосудистое ползание перед трансмиграцией нейтрофилов. CD11 участвует в многочисленных связанных с адгезией связях между клетками, такими как моноциты, макрофаги, естественные клетки-киллеры (NK) и гранулоциты.

[000340] **ФИГ. 9А-9В** показывает процент экспрессии CD11b в зависимости от концентрации антитела (антагониста C5aR1) в присутствии 100 нМ C5a. Наблюдали, что антитела сильно ингибировали CD11b во всем диапазоне ожидаемой физиологической концентрации C5a. В **Таблице 8** показана ИК50 с2139 и с2137-e1711 в присутствии 100 нМ C5a.

Таблица 8. ИК50 ингибирования экспрессии CD11b при применении примерных антител к C5aR1

Антагонист	ИК50 (нМ)
C2139	1,85
C2137-e1711	1,47

[000341] В другом условии в качестве контроля использовали 10 нМ и 100 нМ контрольного антитела к C5aR1 для сравнения ингибирования антителами к C5aR1, раскрытыми в настоящем документе (**FIG. 9C**), в человеческих нейтрофилах. Также наблюдали, что авакопан обладал лишь частичной активностью в ингибировании CD11b. Также наблюдали, что антитела согласно настоящему изобретению были лучшими ингибиторами, чем контрольное антитело к C5aR1.

Пример 6. Ингибирование привлечения β -аррестина

[000342] В данном примере описан функциональный аспект моноспецифичного антитела и бипаратопных антител к C5aR1, описанных в настоящем документе, в отношении ингибирования привлечения β -аррестина.

[000343] Чтобы охарактеризовать кандидатные МАТ как полных антагонистов C5aR1, мы хотели оценить способность кандидатных МАТ ингибировать привлечение β -аррестина-2. В анализе β -аррестина использовали запатентованную люциферазную репортерную систему на основе двух субъединиц: одна субъединица слита с C5aR1, и одна субъединица слита с β -аррестином-2. В непосредственной близости друг от друга две субъединицы образовывали фермент, который генерирует люминесцентный сигнал, применяемый в качестве приближенного значения для C5aR1-опосредуемого привлечения β -аррестина-2. Примерные антитела значительно снижали C5aR1-опосредуемое привлечение β -аррестина-2 при двух различных концентрациях C5a, 1 нМ и 10 нМ. **ФИГ. 10А-10С** представляют собой графики, показывающие ингибирование флуоресцентного сигнала после добавления 1 нМ (**ФИГ. 10А**), 10 нМ (**ФИГ. 10В**) и 100 нМ (**ФИГ. 10С**) C5a. В **Таблице 9** показаны ИК50 для опосредуемого с2139, с2137-e1711 и авакопаном ингибирования β -аррестина.

Таблица 9. ИК50 моноспецифичного или бипаратопного антитела для передачи сигналов с участием β -аррестина

Название	10 нМ C5a		100 нМ C5a	
	ИК50	R-значение	ИК50	R-значение
c2139	1,783 нМ	0,995	0,6516 нМ	0,999
c2139-e1711	0,766 нМ	0,829	0,3598 нМ	0,972

Авакопан	9,953 нМ	0,818	3,246 нМ	0,846
----------	----------	-------	----------	-------

[000344] При сравнении с низкомолекулярным ингибитором C5aR1 авакопаном примерные антитела, c2139 и c2137-e1711, показали лучшее ингибирование сигнала, даже если авакопан применяли в концентрациях, превышающих концентрации антител в 10 раз. Примечательно, что авакопан утрачивал активность по мере повышения концентраций C5a до 10 нМ, тогда как c2139 и c2137-e1711 сохраняли >75% ингибирования привлечения β -аррестина-2. Данные свидетельствуют о том, что примерные антитела к C5aR1 c2139 и c2137-e1711 ингибируют β -аррестин в 10-кратно более низких концентрациях, чем авакопан.

Пример 7. Ингибирование продуцирования АФК гуманизированными антителами к C5aR1

[000345] В данном примере показано, что примерные гуманизированные моноспецифичные антитела (c2139) и примерные бипаратопные антитела (c2137-e1711) снижали уровень активных форм кислорода (АФК).

[000346] Продуцирование АФК нейтрофилами детектировали с помощью аналитического набора для клеточного детектирования АФК (Abcam) в соответствии с руководством производителя. После лизиса эритроцитов лейкоциты разбавляли до концентрации 3×10^5 клеток в 100 мл буфера. Предварительную обработку ингибитором АФК (N-ацетил-L-цистеином) проводили для группы отрицательного контроля при 37°C, 5% CO₂ в течение 30 минут. Антитело для детектирования АФК затем добавляли в смесь антител для детектирования продуцирования АФК нейтрофилами на основе проточной цитометрии. Индуктор АФК (пиоцианин) добавляли ко всем группам и инкубировали в течение 30 минут перед сбором данных на цитометре. **ФИГ. 11** показывает продуцирование АФК в нейтрофилах в АНЦА- и АНЦА+ группах в ответ на обработку антителами к C5aR1.

[000347] Наблюдали, что c2139 и c2137-e1711 ингибировали продуцирование АФК, индуцированное АНЦА.

Пример 8. Интернализация гуманизированных антител к C5aR1 в клетках U937

[000348] В данном примере показана интернализация гуманизированных моноспецифичных и бипаратопных антител к C5aR1 в клетках hC5ar1-U937.

Гуманизированное моноспецифичное антитело к C5aR1, e1711, и бипаратопное антитело, c2139-e1711, конъюгировали с рН-чувствительным красителем, который ярко флуоресцирует при низком рН, но не флуоресцирует при нейтральном рН. Конъюгированные антитела инкубировали с клетками U937 и клетками U937 со вставленным hC5aR1. **ФИГ. 12А-12D** показывают интенсивность флуоресценции после 24

часов инкубации с каждым конъюгированным антителом. **ФИГ. 12А-FIG. 12В** показывает интенсивность флуоресценции клеток U037 или клеток U937-C5aR1 с 10 нМ антител; и **ФИГ. 12С-ФИГ. 12D** показывает интенсивность флуоресценции клеток U037 или клеток U937-C5aR1 с 100 нМ антител.

Пример 9. Перекрестная реактивность гуманизированных антител к C5aR1

[000349] В данном примере показано связывание гуманизированного антитела к C5aR1, e1711, и бипаратопного антитела, c2139-e1711, с C5aR1 у беличьей обезьяны и собаки.

[000350] Связывание с клеточной поверхностью и проточную цитометрию выполняли на полулогарифмических титрованиях антител к C5aR1 в диапазоне от $10^{-7,5}$ до 10^{-12} М. Как показано на **ФИГ. 13А-13В**, гуманизированные антитела к C5aR1 связывались с C5aR1 беличьей обезьяны и собаки.

Пример 10. Ингибирование нейтропении у беличьих обезьян

[000351] В данном примере показано ингибирование нейтропении антителами к C5aR1 у беличьих обезьян. Нейтропения вызвана быстрой экспрессией CD11b на клеточной поверхности, что позволяет нейтрофилам временно прилипать к эндотелию кровеносных сосудов, что снижает количество периферических нейтрофилов. Беличья обезьяна представляет собой физиологически целесообразную модель по сравнению с мышами для оценки нейтропении, поскольку количество нейтрофилов у беличьих обезьян сходно с количеством клеток у человека (50-70%), у мышей имеется только 10-20%. Кроме того, у беличьих обезьян можно собирать кровь во множестве временных точек, что позволяет увеличить продолжительность исследования. Также наблюдали, что оно перекрестно реагирует с C5aR1 беличьей обезьяны, как показано на **ФИГ. 13А**.

[000352] **ФИГ. 14А** показывает дизайн эксперимента у беличьих обезьян для оценки облегчения нейтропении. В общих чертах, три группы беличьих обезьян оценивали в отношении ингибирования нейтропении. В первой группе 8 беличьим обезьянам вводили путем внутривенной инъекции ФСБ (носитель). Во второй группе 8 беличьим обезьянам вводили путем внутривенной инъекции примерные антитела в дозе 10 мг/кг. В третьей группе 8 беличьим обезьянам на группу вводили путем внутривенной инъекции авакопан в дозе 30 мг/кг. Через час после инъекции ФСБ, примерных антител или авакопана беличьим обезьянам вводили путем инъекции 0,1 мг/кг человеческого C5a. Кровь собирали через 1 мин, 5 мин, 15 мин, 2 ч и 6 ч после инъекции человеческого C5a. Процентное изменение количества нейтрофилов и среднее изменение количества нейтрофилов рассчитывали во всех трех группах и представили на **ФИГ. 14В** в виде точечного графика. Среднее изменение количества нейтрофилов показано на **ФИГ. 14С** в виде столбикового графика.

[000353] Наблюдали, что введение человеческого C5a приводило к быстрой преходящей нейтропении, вызванной адгезией нейтрофилов на эндотелиальных клетках. Группа носителя (ФСБ) продемонстрировала устойчивую нейтропению со средним снижением количества нейтрофилов на 89% по сравнению с исходным уровнем через 1 мин после инъекции C5a. Значительное ингибирование нейтропении наблюдали при предварительной обработке примерными антителами к C5aR1 (23% по сравнению с 89% для носителя). Также наблюдали, что количество нейтрофилов начинает восстанавливаться в период от 2 до 6 часов. Для авакопана наблюдали нейтрофилию. Не наблюдали нейтрофилии в случае с2139. Группа авакопана также отвечала со средним снижением количества нейтрофилов на 59%. Наблюдали, что примерные антитела к C5aR1 имели лучшую частоту ответов по сравнению с авакопаном.

Пример 11. Ингибирование нейтропении у мышей, трансгенных по человеческому C5aR1

[000354] В данном примере показано ингибирование нейтропении антителами к C5aR1 у мышей, трансгенных по человеческому C5aR1. Примерные антитела к C5aR1 не реагируют перекрестно с мышинным C5aR1. Трансгенных мышей со вставленным человеческим C5aR1 (hC5aR1) создавали с применением технологии CRISPR в The Jackson Laboratory.

[000355] **ФИГ. 15А** показывает дизайн эксперимента у мышей для оценки облегчения нейтропении. В общих чертах, пять групп мышей, трансгенных по hC5aR1, оценивали в отношении ингибирования нейтропении. В первой группе 5 мышам, трансгенным по hC5aR1, вводили путем внутривенной инъекции ФСБ (носитель). Во второй группе 5 мышам, трансгенным по hC5aR1, вводили путем внутривенной инъекции примерное моноспецифичное антитело к C5aR1 с2139 в дозе 20 мг/кг. В третьей группе 5 мышам, трансгенным по hC5aR1, на группу вводили путем внутривенной инъекции примерное бипаратопное антитело к C5aR1 с2137-e1711 в дозе 20 мг/кг. В четвертой группе 5 мышам, трансгенным по hC5aR1, вводили путем внутривенной инъекции антитело, не связывающее C5aR1 (мотавизумаб), в дозе 20 мг/кг. В пятой группе 5 мышам, трансгенным по hC5aR1, вводили путем внутривенной инъекции авакопан в дозе 30 мг/кг. Через час после инъекции ФСБ, примерных антител, мотавизумаба или авакопана мышам, трансгенным по hC5aR1, вводили путем инъекции 0,1 мг/кг человеческого C5a. Кровь собирали через 1 мин, 5 мин и 2 ч после инъекции человеческого C5a. Процентное изменение количества нейтрофилов и среднее изменение количества нейтрофилов рассчитывали во всех трех группах и представили на **ФИГ. 15В-15С**. Среднее изменение количества нейтрофилов показано на

ФИГ. 15С. Количество нейтрофилов оценивали путем гейтирования CD45+/CD11b+/Ly6G+ клеток.

[000356] Наблюдали, что введение человеческого C5a приводило к быстрой преходящей нейтропении, вызванной адгезией нейтрофилов на эндотелиальных клетках. Группа носителя (ФСБ) продемонстрировала устойчивую нейтропению со средним снижением количества нейтрофилов на 89% по сравнению с исходным уровнем через 1 мин после инъекции C5a. Значительное ингибирование нейтропении наблюдали при предварительной обработке примерными антителами к C5aR1 (23% по сравнению с 89% для носителя). Группа авакопана также отвечала со средним снижением количества нейтрофилов на 59%.

[000357] Наблюдали, что примерные антитела к C5aR1 имели лучшую частоту ответов по сравнению с авакопаном. Наблюдали, что введение человеческого C5a приводило к быстрой преходящей нейтропении у мышей, трансгенных по hC5aR1. Группа носителя (ФСБ) продемонстрировала устойчивую нейтропению со средним снижением количества нейтрофилов на 76% по сравнению с исходным уровнем через 1 мин после инъекции C5a. Значительное ингибирование нейтропении наблюдали при предварительной обработке примерным моноспецифичным антителом к C5aR1 (11% по сравнению с 89% для носителя). Полное ингибирование наблюдали для примерного бипаратопного антитела к C5aR1. Группа авакопана также отвечала со средним снижением количества нейтрофилов на 10%.

Пример 12. Фармакокинетические исследования примерных антител к C5aR1 у мышей, трансгенных по hC5aR1

[000358] В данном примере показаны исследования фармакокинетики (ФК) примерных антител к C5aR1 у мышей.

[000359] 5 мг/кг примерных моноспецифичных и бипаратопных антител вводили путем внутривенной инъекции мышам Tg32. Количество антитела в сыворотке крови оценивали в течение периода в 500 часов. **ФИГ. 16А** показывает фармакокинетические свойства примерных антител. **ФИГ. 16В-16Д** показывают стабильность антител к C5aR1 в сыворотке крови 5 различных мышей в течение 500 часов. Наблюдали, что моноспецифичное (с2139 – **ФИГ. 16С**) и бипаратопное (с2137-e1711 – **ФИГ. 16Д**) антитела были стабильными в сыворотке крови и сохранялись эквивалентно у мышей Tg32. У мышей, трансгенных по hC5aR1, TMDD наблюдали как с с2139, так и с с2137-e1711. Четырехвалентные антитела характеризуются немного более низкой устойчивостью в сыворотке крови по сравнению с моноспецифичным антителом. Мотавизумаб использовали в качестве контроля.

Пример 13. Прогнозирование фармакокинетических исследований примерных антител к C5aR1 у людей

[000360] Нелинейную ФК наблюдали для известных антител к C5aR1 (Lee et al, 2006, PMID 16980984). Сообщалось, что >90% занятость рецептора наблюдали в течение 4,3 недели при 10 мг/кг дозе в/в и >90% занятость рецептора наблюдали в течение 1,8 недели при 4 мг/кг дозе подкожно. На основании данных об аффинности гуманизированных антител к C5aR1 согласно настоящему изобретению моделирование показало нелинейный клиренс в диапазоне от 0,1 до 10 мг/кг антитела, который, как прогнозировалось, приводит к занятости рецептора >90% в течение 24 дней после в/в введения.

[000361] Несмотря на биодоступность, прогнозируется, что подкожная доза 4 мг/кг будет иметь занятость рецептора >90% в течение примерно 7-13 дней.

[000362] Наблюдали, что четырехвалентные антитела (бипаратопные) имели немного более низкую устойчивость в сыворотке крови по сравнению с моноспецифичным кандидатным антителом.

Пример 14. Стабильность примерных антител к C5aR1 при 4°C

[000363] В данном примере показана стабильность примерных антител к C5aR1 (как моноспецифичных, так и бипаратопных) при 4°C с одним циклом оттаивания в промежутке.

[000364] Как моноспецифичные, так и бипаратопные антитела инкубировали при 4°C до 14 дней. После одного цикла оттаивания при 37°C количество интактных антител оценивали с помощью гелевой фильтрации, нативного PAGE и динамического рассеяния света (DLS). В **Таблице 10** показано процентное содержание агрегатов антитела (HMW) по сравнению с процентом интактного антитела.

Таблица 10. Стабильность биспецифичного антитела к C5aR1 после 1 цикла замораживания-оттаивания при комнатной температуре/37°C.

Информация об образце					T = 0 неделя		T = 1 неделя		T = 2 недели		37°C T1 день		3/0 1 цикл	
Формат	Дата очистки и / Факти- ческая време- нная точка	№ пар- тии	Назв- ание обра- зца	Те- m р	% Н М W	% осно вног о пика								
	9/29/2 020	100 77	c213 9	2- 8C	11, 7	88,3	11, 2	88,8	10, 7	89,4	10, 0	90,1	9,7	90,3

	(1, 2, 3, 5 нед.)			К Т			10, 6	89,4	10, 1	89,9				
Тетравалентный, формат scFv	8/11/2002	9996	c2137-e1711	2-8C	8,5	91,5	8,4	91,6	8,3	91,7	8,1	91,9	8,1	91,9
	(8, 9, 10, 12 нед.)			К Т			8,4	91,6	8,3	91,7				

[000365] Наблюдали, что как моноспецифичные, так и бипаратопные антитела были стабильными при 4°C и КТ до 2 недель и одном цикле замораживания/оттаивания.

Пример 15 – Кинетические анализы антагонистических гуманизированных антител к C5aR1 с модифицированным доменом Fc.

[000366] В данном примере описана аффинность и специфичность связывания моноспецифичного антитела к сайту II и бипаратопных антител с модифицированным доменом Fc, описанных в настоящем документе, с C5aR1 и C5aR2. Модификации домена Fc вводили для противодействия эффекторным функциям, таким как АЗКЦ или АЗКФ. Кроме того, модифицированный домен Fc содержит мутацию для предотвращения обмена плечами Fab. В **Таблице 11** обобщены модификации Fc в антителах к C5aR1.

Таблица 11 - Обзор моноспецифичных и бипаратопных антител к C5aR1 с модифицированными доменами Fc.

	МОНОСПЕЦИФИЧНОЕ	БИПАРАТОПНОЕ
Название	c2139-Fcmod	c2137-e1711-Fcmod
Область V_H	область V _H c2137	область V _H c2137-e1711
Мутации сайленсинга Fc	F234V, L235E, D265G	F234V, L235E, D265G
Мутация, предотвращающая обмен плечами Fab	S228P	S228P

[000367] Аффинность связывания моноспецифичных и бипаратопных антител с модифицированным доменом Fc рассчитывали, как описано в Примере 1. Моноспецифичное антитело с модифицированным доменом Fc далее называется «c2139-Fcmod»; и бипаратопное антитело с модифицированным доменом Fc далее называется «c2137-e1711-Fcmod».

(a) *Аффинность связывания*

[000368] Кривые аффинности моноспецифичного антитела к C5aR1 (c2139-F_cmod) и бипаратопного антитела к C5aR1 (c2137-e1711-F_cmod) проиллюстрированы на **ФИГ. 17А**.

[000369] Наблюдали, что в описанных выше условиях моноспецифичное антитело к C5aR1, c2139-F_cmod, связывало C5aR1 с аффинностью примерно 0,31 нМ и бипаратопное антитело к C5aR1, c2137-e1711-F_cmod, связывало C5aR1 с аффинностью примерно 0,34 нМ.

[000370] Примерные кинетические анализы связывания с клетками, экспрессирующими C5aR1, показаны на (**ФИГ. 17В**). Кинетические показатели аппроксимировали после 2–3 фаз ассоциации дозы с последующей диссоциацией. Наблюдали, что ЭК50 F_c-модифицированных антител были сопоставимы с ЭК50 F_c-немодифицированного антитела. Например, как видно из **Таблицы 12**, ЭК50 бипаратопного антитела, c2137-e1711 и c2137-e1711-F_cmod, в обоих случаях составляла примерно 1 нМ в клетках U937-C5aR1, примерно 1 нМ и 2 нМ в нейтрофилах и 0,5 нМ и 0,6 нМ в макрофагах.

Таблица 12 – Сравнение ЭК50 c2137-e1711 и c2137-e1711-F_cmod

	U937-C5aR1	Нейтрофилы	Макрофаги
c2137-e1711-F_cmod	Кон: $2,6 \times 10^4$ (1/(M*c)) Koff: $3,4 \times 10^{-5}$ (1/c) KD: ~1 нМ	Кон: $2,6 \times 10^4$ (1/(M*c)) Koff: $3,4 \times 10^{-5}$ (1/c) KD: ~1 нМ	Кон: $8,8 \times 10^4$ (1/(M*c)) Koff: $3,8 \times 10^{-5}$ (1/c) KD: ~0,5 нМ
c2137-e1711	Кон: $1,5 \times 10^4$ (1/(M*c)) Koff: $1,6 \times 10^{-5}$ (1/c) KD: ~1 нМ	Кон: $6,9 \times 10^3$ (1/(M*c)) Koff: $2,0 \times 10^{-5}$ (1/c) KD: ~2 нМ	Кон: $9,7 \times 10^4$ (1/(M*c)) Koff: $5,8 \times 10^{-5}$ (1/c) KD: ~0,6 нМ

(b) Специфичность связывания

[000371] Специфичность F_c-модифицированных антагонистических антител к C5aR1 определяли путем измерения аффинности антител к C5aR1 в отношении C5aR2. Это определяли, как описано в Примере 1.

[000372] **ФИГ. 17С** показывает кривые аффинности для определения специфичности c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod. Наблюдали, что F_c-модифицированные антитела не проявляли аффинности в отношении C5aR2.

Пример 16 – *Интернализация антител к C5aR1.*

[000373] В примере проводится проверка того, что интернализация антител к C5aR1 является специфичной, и не обусловлена неспецифичной кластеризацией мембранного иммуноглобулина. Азид натрия является метаболическим ингибитором и ингибирует интернализацию или эндоцитоз, поскольку эти процессы зависят от энергии. Любую метаболическую зависимость интернализации примерных антител к C5aR1 тестировали с применением 10 нМ антител к C5aR1 в присутствии или в отсутствие 20 мМ азидата натрия. Наблюдали, что примерные антитела к C5aR1 подвергались интернализации на основе метаболизма. Например, c2139 подвергалось интернализации через несколько часов после диссоциации, и c2139-e1711 подвергается интернализации во время ассоциации. Константа диссоциации моноспецифичного антитела к C5aR1, c2139, в присутствии 20 мМ азидата натрия составляла $1,43 \times 10^{-5}$ в секунду, тогда как константа диссоциации без азидата натрия составляла $3,4 \times 10^{-5}$ в секунду. Константа ассоциации бипаратопного антитела к C5aR1, c2137-e1711, в присутствии 20 мМ азидата натрия составляла $2,15 \times 10^4$ на моль в секунду, тогда как константа диссоциации без азидата натрия составляла $4,38 \times 10^3$ на моль в секунду.

ФИГ. 18А-18В демонстрируют усиление интернализации антител к C5aR1. **ФИГ. 18А** представляет собой примерный график, показывающий интернализацию через несколько часов после диссоциации моноспецифичного антитела, c2139. **ФИГ. 18В** представляет собой примерный график, показывающий усиление интернализации бипаратопного антитела, c2137-e1711, во время ассоциации.

[000374] Наблюдали, что неспецифичная кластеризация мембранного иммуноглобулина не была единолично ответственна за интернализацию примерных антител к C5aR1.

Пример 17 – Ингибирование передачи сигналов с участием Gα Fc-модифицированными антителами к C5aR1

[000375] В данном примере описан функциональный аспект Fc-модифицированных моноспецифичных антител и бипаратопных антител к C5aR1, описанных в настоящем документе, в отношении ингибирования передачи сигналов с участием Gα с использованием анализа GeneBLazer.

[000376] Этот эксперимент проводили, как подробно описано в Примере 2. **ФИГ. 19А-19В** показывает результаты ингибирования передачи сигналов с участием Gα в присутствии Fc-модифицированных антител к C5aR1 c2137-e1711-Fcmod и c2139-Fcmod по сравнению с авакопаном и контрольным антителом к C5aR1. Наблюдали, что как c2137-e1711-Fcmod, так и c2139-Fcmod сильно ингибировало передачу сигналов с участием Gα дозозависимым образом.

[000377] В Таблице 13 обобщены данные по ингибированию в сравнении с авакопаном и контрольным антителом к C5aR1 при 10 нМ и 100 нМ концентрациях C5a. Наблюдали, что c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod сохраняли лучший уровень ингибирования по сравнению с авакопаном и контрольным антителом к C5aR1 даже при более высоких концентрациях C5a.

Таблица 13 – Ингибирование c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod в присутствии C5a по сравнению с авакопаном и контрольным антителом к C5aR1

Антагонист	ИК50 (нМ)	
	10 нМ C5a	100 нМ C5a
c2139-F _c mod	0,09	0,05
c2137-e1711-F _c mod	0,06	0,04
Авакопан	2,2	0,7*
Контрольное антитело к C5aR1	4,7	6,2

* Экстраполированные данные - предыдущие данные с авакопаном указывают на то, что он не очень сильный при высокой концентрации C5a

Пример 18 – Ингибирование передачи сигналов с участием кальция F_c-модифицированными антителами к C5aR1

[000378] В данном примере описан функциональный аспект F_c-модифицированных моноспецифичных антител и бипаратопных антител к C5aR1, описанных в настоящем документе, в отношении ингибирования опосредуемой C5a передачи сигналов с участием кальция с использованием анализов потоков кальция.

[000379] Этот эксперимент проводили, как описано в Примере 3. **ФИГ. 20А-20В** показывают результаты ингибирования передачи сигналов с участием кальция в присутствии F_c-модифицированных антител к C5aR1 c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod по сравнению с авакопаном и контрольным антителом к C5aR1 в клетках U937-C5aR1. Наблюдали, что c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod более сильно ингибировали поток кальция, чем авакопан и контрольное антитело к C5aR1. Наблюдали, что для достижения уровней ингибирования, показанных c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod, требовалось по меньшей мере 10–100×. Наблюдали, что F_c-модифицированные антитела к C5aR1 ингибировали передачу сигналов с участием кальция в человеческих нейтрофилах, а также в клетках U937-C5aR1. **ФИГ. 20А** представляет собой примерный график, показывающий

кривую зависимости ответа от дозы, отражающий ингибирование передачи сигналов с участием кальция с применением примерного Fc-модифицированного гуманизированного антитела к сайту II, описанного в настоящем изобретении, в присутствии повышающихся концентраций антитела и 100 нМ C5a. **ФИГ. 20В** представляет собой график процента ингибирования, показывающий ингибирование передачи сигналов с участием кальция с применением примерного Fc-модифицированного гуманизированного антитела к сайту II, описанного в настоящем изобретении, в присутствии антитела и 100 нМ C5a.

[000380] **ФИГ. 21А-21D** показывает ингибирование в клетках U937-C5aR1 по сравнению с человеческими нейтрофилами. **ФИГ. 21А** показывает ингибирование передачи сигналов с участием кальция в клетках U937-C5aR1 в присутствии 10 нМ C5a. **ФИГ. 21В** показывает ингибирование передачи сигналов с участием кальция в клетках U937-C5aR1 в присутствии 100 нМ C5a. **ФИГ. 21С** показывает ингибирование передачи сигналов с участием кальция в человеческих нейтрофилах в присутствии 10 нМ C5a. **ФИГ. 21D** показывает ингибирование передачи сигналов с участием кальция в человеческих нейтрофилах в присутствии 100 нМ C5a.

[000381] Кроме того, Fc-модифицированные антитела тестировали на ингибирование опосредуемой C5a передачи сигналов с участием кальция в клетках U937-C5aR1 после инкубации с указанными концентрациями антагонистических антител при различных значениях времени инкубации (например, 1 ч и 3 ч). **ФИГ. 22А-22В** обобщают уровни насыщения клеток U937-C5aR1 с каждым ингибитором. **ФИГ. 22А** обобщает процент насыщения и F_{opt} клеток U937-C5aR1, инкубированных с повышающимися концентрациями антитела (c2139-F_cmod и c2137-e1711-F_cmod) и 100 нМ C5a, после 1 часа инкубации. **ФИГ. 22В** обобщает процент насыщения и F_{opt} клеток U937-C5aR1, инкубированных с повышающимися концентрациями антитела (c2139-F_cmod и c2137-e1711-F_cmod) и 100 нМ C5a, после 3 часов инкубации.

[000382] **ФИГ. 22А** показывает зависимость ингибиторного ответа от дозы для передачи сигналов с участием кальция с помощью c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod. **ФИГ. 22В** показывает процент ингибирования передачи сигналов с участием кальция с помощью c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod.

[000383] Наблюдали, что c2137-e1711-F_cmod было более сильным, чем авакопан и контрольное антитело к C5aR1. Кроме того, c2139-F_cmod достигло точки насыщения при коротком времени инкубации с антагонистом. Это насыщение несколько ослабляется при более длительном времени инкубации с антагонистом. Это явление наблюдали только с c2139-F_cmod и наблюдали с предшественником c2139.

Пример 19 – Ингибирование передачи сигналов с участием β -аррестина Fc-модифицированными антителами к C5aR1

В данном примере описан функциональный аспект Fc-модифицированного моноспецифичного антитела и бипаратопных антител к C5aR1, описанных в настоящем документе, в отношении ингибирования привлечения β -аррестина.

[000384] Детали эксперимента по определению привлечения β -аррестина описаны в Примере 6. **ФИГ. 23А-23В** показывают обобщенные данные по ингибированию C5a-опосредуемой передачи сигналов с участием β -аррестина с помощью c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod. Наблюдали, что c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod более сильно блокировали привлечение β -аррестина к C5aR1, чем авакопан и контрольное антитело к C5aR1. В **Таблице 14** обобщены K_D ингибирования привлечения β -аррестина.

Таблица 14 – K_D ингибирования β -аррестина

Антагонист	ИК50 (нМ) при 100 нМ C5a
c2139-F _c mod	1,9
c2137-e1711-F _c mod	0,5
Авакопан	34
Контрольное антитело к C5aR1	12,7

Пример 20 – Ингибирование хемотаксиса нейтрофилов Fc-модифицированными антителами к C5aR1

[000385] В данном примере описан функциональный аспект Fc-модифицированных моноспецифичных антител и бипаратопных антител к C5aR1, описанных в настоящем документе, в отношении ингибирования хемотаксиса нейтрофилов, который, как известно, индуцируется активностью C5aR1, с использованием камеры Бойдена.

[000386] Детали эксперимента по определению хемотаксиса нейтрофилов описаны в Примере 4. **ФИГ. 24А-24D** показывают ингибирование хемотаксиса в стабильных клетках C5aR1-U937 после обработки антителами к C5aR1, c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod. Наблюдали, что c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod сильнее ингибировали хемотаксис, чем авакопан и контрольное антитело к C5aR1. **ФИГ. 24А** показывает ингибирование хемотаксиса в стабильных клетках C5aR1-U937 в присутствии 1 нМ, 3,16 нМ и 10 нМ c2139-F_cmod и повышающейся концентрации C5a. **ФИГ. 24В** показывает ингибирование хемотаксиса в стабильных клетках C5aR1-U937 в присутствии 1 нМ, 3,16 нМ и 10 нМ C5a c2137-e1711-F_cmod и повышающейся концентрации C5a. **ФИГ. 24С-24D** показывает

ингибирование хемотаксиса в стабильных клетках C5aR1-U937 в присутствии 1 нМ, 3,16 нМ и 10 нМ контрольного антитела к C5aR1 и авакопана, соответственно, в присутствии c2137-e1711-F_cmod.

Пример 21 – Ингибирование экспрессии CD11b Fc-модифицированными антителами к C5aR1

[000387] В данном примере описан функциональный аспект Fc-модифицированных моноспецифичных антител и бипаратопных антител к C5aR1, описанных в настоящем документе, в отношении ингибирования экспрессии CD11b.

[000388] Детали эксперимента по определению экспрессии CD11b описаны в Примере 5. **ФИГ. 25А-25В** показывают ингибирование передачи сигналов с участием CD11b в ответ на обработку c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod. Наблюдали, что c2137-e1711-F_cmod и c2139-F_cmod сильно ингибировали экспрессию CD11b в широком диапазоне концентраций C5a по сравнению с авакопаном и контрольным антителом к C5aR1. **ФИГ. 25А** показывает ингибирование передачи сигналов с участием CD11b в присутствии повышающейся концентрации антагонистического антитела к C5aR1 и 10 нМ C5a. **ФИГ. 25В** показывает ингибирование передачи сигналов с участием CD11b в присутствии повышающейся концентрации антагонистического антитела к C5aR1 и 100 нМ C5a.

Пример 22 – Ингибирование продуцирования АФК Fc-модифицированными антителами к C5aR1

[000389] В данном примере показано, что примерные гуманизированные Fc-модифицированные моноспецифичные антитела (c2139-F_cmod) и примерные бипаратопные антитела (c2137-e1711-F_cmod) снижали уровень активных форм кислорода (АФК).

[000390] Детали эксперимента по определению продуцирования АФК описаны в Примере 7. **ФИГ. 26А-26В** показывает ингибирование продуцирования АФК в лейкоцитах после лизиса эритроцитов, обработанных c2139-F_cmod, c2137-e1711-F_cmod по сравнению с c2139, c2137-e1711, контрольным антителом к C5aR1 и авакопаном. Наблюдали, что c2139-F_cmod и c2137-e1711-F_cmod сохраняли низкую активность респираторного взрыва в нейтрофилах, сходно с авакопаном и контрольным антителом к C5aR1. Кроме того, c2139-F_cmod и c2137-e1711-F_cmod характеризовались сниженной активностью респираторного взрыва по сравнению с предыдущими формами c2139 и c2137-e1711. **ФИГ. 26А** показывает ингибирование продуцирования АФК повышающейся концентрацией моноспецифичного антитела к C5aR1 (Fc-модифицированного). **ФИГ. 26В** показывает ингибирование продуцирования АФК повышающейся концентрацией бипаратопного антитела к C5aR1 (Fc-модифицированного).

Пример 23. Ингибирование нейтропении у мышей, трансгенных по человеческому C5aR1, с помощью Fc-модифицированных антител к C5aR1

[000391] В данном примере показано ингибирование нейтропении Fc-модифицированными антителами к C5aR1 у мышей, трансгенных по человеческому C5aR1. Как описано выше (Пример 11), примерные антитела к C5aR1 не реагируют перекрестно с мышинным C5aR1. Трансгенных мышей со вставленным человеческим C5aR1 (hC5aR1) создавали с применением технологии CRISPR в The Jackson Laboratory.

[000392] **ФИГ. 27А** показывает дизайн эксперимента у мышей для оценки облегчения нейтропении. Детали эксперимента для данного анализа *in vivo* на мышах описаны в Примере 11. Процентное изменение количества нейтрофилов и среднее изменение количества нейтрофилов рассчитывали во всех группах и представили на **ФИГ. 27В-27С**. Среднее изменение количества нейтрофилов показано на **ФИГ. 27В**. Изменение количества нейтрофилов показано на **ФИГ. 27С**. Наблюдали, что новые Fc-подавленные кандидаты были такими же сильными, как и неподдавленные c2139 и c2137-e1711. Группа носителя (ФСБ) продемонстрировала устойчивую нейтропению со средним снижением количества нейтрофилов на 65% по сравнению с исходным уровнем через 1 мин после инъекции C5a. Одно животное не ответило на C5a в контрольной группе, получавшей носитель.

Пример 24. Защита от инсульта в модели на мышах

[000393] В этом эксперименте продемонстрирована способность c2139-Fcmod и c2137-e1711-Fcmod защищать от увеличения объема инфаркта в модели инсульта на мышах. Активность нейтрофилов и инфильтрация в головной мозг хорошо задокументированы при инсульте и травматическом повреждении головного мозга, в том числе в острых моделях.

[000394] 20 мг/кг каждого c2139-Fcmod и c2137-e1711-Fcmod вводили мышам tMCAO. В качестве контроля использовали 1 мг/кг PMX53. Головной мозг вырезали, разрезали на срезы и окрашивали TTC. Окрашенные поперечные срезы анализировали с помощью визуализации.

[000395] Наблюдали, что мыши, которых лечили c2139-Fcmod и c2137-e1711-Fcmod, были защищены от инсульта за счет значительного снижения объема инфаркта по сравнению с носителем. Лечение c2137-e1711-Fcmod показало значительное снижение объема инфаркта по сравнению с группой носителя. Лечение c2139-Fcmod показало сниженный объем инфаркта по сравнению с группой носителя. Лечение PMX53 (в качестве положительного контроля и препарата сравнения) показало лишь незначительное снижение объема инфаркта по сравнению с группой, получавшей носитель. **ФИГ. 28А** представляет собой иллюстративное представление снижения объема инфаркта. **ФИГ. 28В** представляет

собой графическое представление объема инфаркта после лечения c2139-F_cmod, c2137-e1711-F_cmod и PMX53.

Пример 25. Фармакокинетические исследования примерных антител к C5aR1 с модифицированными доменами Fc у мышей, трансгенных по hC5aR1

[000396] В данном примере показаны исследования фармакокинетики (ФК) примерных антител к C5aR1 с модифицированными доменами Fc у мышей. Мыши Tg32 представляют собой трансгенную модель, в которой FcRn человека заменяет нативный мышинный FcRn. FcRn необходим для двунаправленного транспорта антител через клеточные барьеры, влияющие на ФК. Мыши Tg32 с FcRn человека широко изучались и, как полагают, ФК у этих мышей коррелирует с ФК у человека. Целью данного эксперимента являлась оценка опосредуемой FcRn рециркуляции IgG-scFv в сравнении с форматами IgG и оценка любого влияния введения модификаций домена Fc на опосредуемую FcRn рециркуляцию.

[000397] 5 мг/кг примерных моносpezifичных и бипаратопных антител вводили путем внутривенной инъекции мышам Tg32. Процентное содержание антитела в сыворотке крови определяли с применением анализов, признанных в данной области техники. MVZ-IgG4-VFc17, антитело мотавизумаб с Fc IgG4 и такими же модификациями Fc, что и у антитела к C5aR1, использовали в качестве контроля. Дополнительные анализы ФК/ФД проводили с применением CERTARA.

[000398] Наблюдали, что C_{max} (наивысшая концентрация антител в крови) была сходной как для моносpezifичных, так и для бипаратопных антител. Кроме того, наблюдали, что период полужизни антител был сходным у c2139-F_cmod и c2137-e1711-F_cmod.

[000399] Количество антитела в сыворотке крови оценивали в течение периода в 500 часов. В **Таблице 15** показаны дозировка и интервалы отбора образцов для фармакокинетических исследований.

Таблица 15 – График введения доз и отбора образцов для примерных Fc-модифицированных антител к C5aR1 для определения фармакокинетики отдельных антител.

Антитело	Доза (мг/кг)	N	Отбор образцов крови
c2139-F _c mod	5	5	1 ч, 8 ч, 1 д., 2 д., 3 д., 4 д., 6 д., 8 д., 10
c2137-e1711-F _c mod	5	5	
MVZ-IgG4-VFc17	5	5	

			д., 12 д., 15 д., 18 д., 21 д.
--	--	--	-----------------------------------

[000400] **ФИГ. 29А-29В** показывает фармакокинетические свойства Fc-модифицированных антител к C5aR1. **ФИГ. 29А** представляет собой графическое представление процента Fc-модифицированных антител к C5aR1 в сыворотке крови в течение 500 часов. **ФИГ. 29В** представляет собой графическое представление средней концентрации в мкг антитела/мл в сыворотке крови в течение 500 часов. Эти наблюдения показали, что c2137-e1711-Fc_{mod} эффективно взаимодействовало с hFcRn и рециклировало таким же образом, как и c2139-Fc_{mod}. Кроме того, данные ФК также были сходными с ФК антител к C5aR1 с немодифицированными доменами Fc. В **Таблице 16** показаны параметры ФК для примерных Fc-модифицированных антител к C5aR1.

Таблица 16 – Фармакокинетические параметры Fc-модифицированных антител к C5aR1.

		Параметр							
		C _{max}	t _{last}	AUC ₀₋₂₄	AUC _{last}	AUC _{inf}	t _{1/2}	CL	V
		(мкг/мл)	(ч)	(мкг*ч/мл)	(мкг*ч/мл)	(мкг*ч/мл)	(ч)	(мл/ч/кг)	(мл/кг)
Антителю	Доза	Геометрическое среднее (геом. КВ%)							
c2139-Fc _{mod}	5 мг/кг	52,6 (29,1%)	504 (504 - 504)*	904 (26,4%)	9230 (8,3%)	11100 (17,3%)	229 (89,2 - 242)*	0,449 (17,3%)	118 (38,2%)
c2137-e1711-Fc _{mod}	5 мг/кг	40,8 (30,1%)	504 (504 - 504)*	699 (18%)	7550 (23,2%)	9500 (38,9%)	221 (67,1 - 390)*	0,526 (38,9%)	135 (45,1%)
Изотипический контроль	5 мг/кг	131 (29,2%)	504 (504 - 504)*	1620 (7,7%)	13100 (7,5%)	16900 (10,4%)	259 (200 - 270)*	0,295 (10,4%)	104 (7,4%)
*Значение представлено в виде медианы (мин. - макс.)									

Пример 26 - Фармакокинетика многократных доз Fc-модифицированных антител к C5aR1 у мышей со вставленным человеческим C5aR1

[000401] В данном примере показаны исследования фармакокинетики (ФК) многократных доз примерных антител к C5aR1 с модифицированными доменами Fc у мышей, трансгенных по hC5aR1.

[000402] В **Таблице 17** обобщен режим дозирования тестируемых антител. Опосредуемое мишенью распределение лекарственного средства (TMDD) очевидно для обоих примерных антител к C5aR1 с модифицированными доменами Fc. TMDD

представляет собой явление, при котором лекарственное средство связывается с высокой аффинностью с его фармакологическим целевым сайтом (таким как рецептор) до такой степени, что это влияет на его фармакокинетические (ФК) характеристики. Связывание мишени и последующее выведение комплексов лекарственное средство-мишень может влиять как на распределение лекарственного средства, так и на выведение, и приводить к нелинейности ФК дозозависимым образом.

[000403] TMDD наиболее часто наблюдается в виде линейной ФК при высоких уровнях дозы и нелинейной ФК при низких уровнях дозы.

[000404] Дозозависимый клиренс наблюдали, как и ожидалось, для антитела с TMDD. Было обнаружено, что при 5 мг/кг и 0,5 мг/кг максимальная концентрация каждого антитела C_{max} была сходной для обоих антител. Кроме того, было обнаружено, что при 5 мг/кг и 0,5 мг/кг период полужизни каждого антитела ($T_{0,5}$) является сходным. При дозе 20 мг/кг с2139 имело лучший период полужизни ($T_{0,5}$), чем с2137-e1711.

Таблица 17 – График введения доз и отбора образцов для примерных Fc-модифицированных антител к C5aR1 для определения фармакокинетики отдельных антител.

Группа	Антитело	Доза (мг/кг)	N	Отбор образцов крови
1	c2139-F _c mod	0,5	4	1 ч, 8 ч, 1 д., 2 д., 3 д., 4 д., 6 д., 8 д., 10 д., 12 д., 15 д., 18 д., 21 д.
2	c2139-F _c mod	5	4	
3	c2139-F _c mod	20	4	
4	c2137-e1711-F _c mod	0,5	4	
5	c2137-e1711-F _c mod	5	4	
6	c2137-e1711-F _c mod	20	4	
7	MVZ-IgG4-VFc17	20	4	

[000405] Связывание мишени и последующее выведение комплексов лекарственное средство-мишень может влиять как на распределение лекарственного средства, так и на выведение, и приводить к нелинейности ФК дозозависимым образом. **ФИГ. 30А-30Г** показывают, что устойчивость антител зависела от дозы. В **Таблице 18** показаны параметры ФК для примерных Fc-модифицированных антител к C5aR1. **ФИГ. 30А** представляет собой графическое представление кривой зависимости ответа от дозы с2139-F_cmod в сыворотке крови в течение 200 часов. **ФИГ. 30В** представляет собой графическое представление кривой зависимости ответа от дозы с2137-e1711-F_cmod в сыворотке крови в

течение 200 часов. **ФИГ. 30С** представляет собой сравнение с2139F_cmod, с2137-e1711-F_cmod и MVZ-IgG4. **ФИГ. 30D** представляет собой *in silico* графическое представление с2139 в трех различных концентрациях в течение периода в 500 часов. **ФИГ. 30Е** представляет собой *in silico* графическое представление с2137-e1711 в трех различных концентрациях в течение периода в 500 часов. **ФИГ. 30F** представляет собой *in silico* графическое представление изотипического контрольного антитела в течение периода в 500 часов при концентрации 20 мг/кг. Ненаивным мышам вводили многократные дозы МАТ один раз в неделю в течение 4 недель. Наблюдали, что как с2139-F_cmod, так и с2137-e1711-F_cmod поддерживают степень воздействия при в/в введении один раз в неделю в дозе 5 мг/кг. Не наблюдали тяжелых исходов при введении доз МАТ один раз в неделю в течение нескольких недель.

[000406] Таблица 18 – Параметры ФК для примерных Fc-модифицированных антител к C5aR1.

		C_{max} (мкг/мл)	t_{1/2} (ч)	AUC₀₋₂₄ (мкг*ч/мл)	AUC_{last} (мкг*ч/мл)	AUC_{inf} (мкг*ч/мл)	t_{1/2} (ч)	CL (мл/ч/кг)	V (мл/кг)
Антитело	Доза	Геометрическое среднее (геом. КВ%)							
c2139-Fcmod	20 мг/кг	355 (12,2%)	504 (504 - 504)*	4880 (12%)	34200 (20,8%)	36700 (26,2%)	135 (105 - 163)*	0,545 (26,2%)	105 (14,2%)
c2137-e1711-Fcmod	20 мг/кг	510 (34,6%)	396 (288 - 504)*	6750 (23,2%)	30100 (28,9%)	30400 (29,8%)	31,6 (16,1 - 90,0)*	0,657 (29,8%)	32,6 (65,5%)
Изотипический контроль	20 мг/кг	453 (29,4%)	504 (288 - 504)*	7130 (22,1%)	55800 (23,4%)	66200 (20,8%)	127 (116 - 192)*	0,302 (20,8%)	60,0 (26,7%)
c2139-Fcmod	5 мг/кг	87,9 (23,7%)	264 (192 - 432)*	1180 (19,6%)	3680 (34%)	3780 (34,8%)	51,6 (24,7 - 72,0)*	1,32 (34,8%)	89,0 (27,1%)
c2137-e1711-Fcmod	5 мг/кг	84,3 (30%)	216 (144 - 288)*	1140 (10,3%)	3590 (15,4%)	4080 (23,1%)	49,7 (48,5 - 110)*	1,22 (23,1%)	113 (24,8%)
c2139-Fcmod	0,5 мг/кг	8,45 (33,4%)	24,0 (24,0 - 24,0)*	90,7 (19,6%)	90,7 (19,6%)	114 (20,7%)	10,5 (7,62 - 11,4)*	4,40 (20,7%)	62,8 (25,4%)
c2137-e1711-Fcmod	0,5 мг/кг	8,05 (21%)	24,0 (24,0 - 24,0)*	89,1 (10,2%)	89,1 (10,2%)	119 (9,5%)	11,7 (9,13 - 12,9)*	4,21 (9,5%)	68,4 (16,9%)
*Значение представлено в виде медианы (мин. - макс.)									

Пример 27 – Ингибирование нейтропении у мышей со вставленным человеческим C5aR1 с помощью Fc-модифицированных антител к C5aR1 в низкой дозе

[000407] В данном примере показано, что с2139-F_cmod и с2137-e1711-F_cmod могут ингибировать в низких дозах нейтропению у мышей со вставленным человеческим C5aR1.

[000408] В Таблице 19 обобщены режим дозирования тестируемых антител и время сбора образцов крови для определения нейтропении. Изменение количества нейтрофилов относительно исходного уровня (сбор образца крови -5 мин) через 1 мин после введения C5a показано на **ФИГ. 31**.

[000409] Наблюдали, что с2139-F_cmod и с2137-e1711-F_cmod сильно ингибировали нейтропению, индуцированную введением C5a, по сравнению с контрольным носителем, даже при дозах 0,1 мг/кг.

Таблица 19. Режим дозирования

Исследуемый препарат	число мышей	доза	Отбор образцов крови для оценки нейтропении				
			-5 мин	0 ч	1 мин	5 мин	2 ч
с2137-e1711-F _c mod	5	0,01 мг/кг в/в	кровь	0,1 мг/кг hC5a в/в	кровь	кровь	кровь
с2137-e1711-F _c mod	5	0,1 мг/кг в/в					
с2137-e1711-F _c mod	5	0,5 мг/кг в/в					
с2137-e1711-F _c mod	1	3 мг/кг в/в					
с2139-F _c mod	5	0,01 мг/кг в/в					
с2139-F _c mod	5	0,1 мг/кг в/в					
с2139-F _c mod	5	0,5 мг/кг в/в					
с2139-F _c mod	1	3 мг/кг в/в					
Изотипическое контрольное МАТ	5	0,5 мг/кг в/в					
Носитель (ФСБ)	5	н/п					

Пример 28 – Интернализация Fc-модифицированных антител к C5aR1

[000410] В данном примере показана интернализация Fc-модифицированных гуманизированных моноспецифичных и бипаратопных антител к C5aR1 в клетках hC5ar1-U937.

[000411] Fc-модифицированные гуманизированные моноспецифичные антитела к C5aR1 с2137-e1711-F_cmod и с2139-F_cmod конъюгировали с pH-чувствительным красителем

(DyLight488), который ярко флуоресцирует при низком pH, но не флуоресцирует при нейтральном pH. Конъюгированные антитела инкубировали с клетками U937 и клетками U937 со вставленным hC5aR1. **ФИГ. 32А** показывает интенсивность флуоресценции через 6 ч и 24 часов инкубации с каждым конъюгированным антителом.

[000412] Наблюдали, что примерные Fc-модифицированные антитела к C5aR1 подвергались интернализации на основе метаболизма. **ФИГ. 32В** показывает интернализацию как c2137-e1711-F_cmod, так и c2139-F_cmod в живых клетках, наблюдаемую в эксперименте с использованием конфокального микроскопа Nikon в течение периода в 300 мин.

ЭКВИВАЛЕНТЫ И ОБЪЕМ

[000413] Специалисты в данной области техники поймут многие эквиваленты конкретных вариантов реализации настоящего изобретения, описанного в настоящем документе, или будут способны установить такие эквиваленты с использованием только лишь обычных экспериментов. Объем настоящего изобретения не ограничивается приведенным выше описанием, а предпочтительно соответствует изложенному в следующей формуле изобретения:

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащий вариабельную область тяжелой цепи (VH), где указанная VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14.
2. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащий вариабельную область легкой цепи (VL), где указанная VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25.
3. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий область VH, где указанная VH содержит три определяющих комплементарность участка тяжелой цепи (HCDR), причем указанные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3 содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 6 (NYWMH), 7 (YLNPSGTYTKYAQKFQG) и 8 (SGGDNYGNPYFDR), соответственно.
4. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий область VL, где указанная VL содержит три определяющих комплементарность участка легкой цепи (LCDR), причем указанные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3 имеют последовательность SEQ ID NO: 9 (RASQSIVHSNGNTYLH), 10 (KVSNRFS) и 11 (AQYTLVPLT), соответственно.
5. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий область VH, где указанная VH содержит три определяющих комплементарность участка тяжелой цепи (HCDR), при этом указанные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3 содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 6 (NYWMH), 7 (YLNPSGTYTKYAQKFQG) и 8 (SGGDNYGNPYFDR), соответственно, и область VL, где указанная VL содержит три определяющих комплементарность участка легкой цепи (LCDR), при этом указанные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3 имеют последовательности SEQ ID NO: 9 (RASQSIVHSNGNTYLH), 10 (KVSNRFS) и 11 (AQYTLVPLT), соответственно.
6. Антитело или антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-5, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент дополнительно содержит область Fc.
7. Антитело или антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-6, где указанный домен Fc независимо выбран из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.
8. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует взаимодействие компонента

комплемента 5a (C5a) с C5aR1.

9. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-8, где указанное антитело не связывается с C5aR2.

10. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-9, где указанное антитело или антигенсвязывающий фрагмент является гуманизированным.

11. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из предыдущих пунктов, где указанная VH или указанная VL модифицирована для повышения стабильности молекулы.

12. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 11, где указанная VL содержит серин или тирозин в положении 96 из SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 25.

13. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-12, где указанное антитело или антигенсвязывающий фрагмент не реагирует перекрестно с мышинным C5aR1.

14. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-13, где указанное антитело связывает C5aR1 с аффинностью от 10 пМ до 50 нМ.

15. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-14, где указанное антитело связывает C5aR1 с аффинностью 0,16 нМ или ниже.

16. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-15, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует хемотаксис нейтрофилов.

17. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-15, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует хемотаксис нейтрофилов в присутствии концентрации C5a, составляющей по меньшей мере 10 нМ.

18. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-15, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует C5a-опосредуемую передачу сигналов с участием C5aR1 Gα.

19. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-15, где указанное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует передачу сигналов с участием кальция.

20. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-15, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует экспрессию CD11b.

21. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-15, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует нейтропению.

22. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-15, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует передачу сигналов с участием β-аррестина.

23. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-15, где указанное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует продуцирование АФК в нейтрофилах.
24. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из предыдущих пунктов, где указанное антитело является стабильным при 4°C до 2 недель с одним циклом замораживания-оттаивания.
25. Нуклеиновая кислота, кодирующая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из предыдущих пунктов.
26. Клетка, содержащая нуклеиновую кислоту по п. 23.
27. Способ получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из предыдущих пунктов, где указанный способ включает; культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, культивирование указанной клетки в условиях, которые обеспечивают продуцирование указанного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.
28. Способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента субъекту, нуждающемуся в лечении, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1) и содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), имеющую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 14, и вариабельную область легкой цепи (VL), имеющую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 25.
29. Способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента субъекту, нуждающемуся в лечении, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает человеческий рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), причем указанная VH имеет по меньшей мере 90% идентичности с SEQ ID NO: 14, и антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывает человеческий рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащего вариабельную область легкой цепи (VL), причем указанная VL по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 15.
30. Способ лечения аутоиммунного заболевания, включающий введение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента субъекту, нуждающемуся в лечении, где указанное

антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1) и содержит:

тяжелую цепь, содержащую HCDR1, содержащий SEQ ID NO: 6 (NYWMH), HCDR2, содержащий SEQ ID NO: 7 (YLNPSGTYTKYAQKFQG), и HCDR3, содержащий SEQ ID NO: 8 (SGGDNYGNPYYFDR); и

легкую цепь, содержащую LCDR1, содержащий SEQ ID NO: 9 (RASQSIHVSNGNTYLH), LCDR2, содержащий SEQ ID NO: 10 (KVSNRFS), и LCDR3, содержащий SEQ ID NO: 11 (AQYTLVPLT).

31. Способ лечения аутоиммунных заболеваний, включающий введение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента субъекту, нуждающемуся в лечении, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 4 или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4.

32. Способ лечения аутоиммунных заболеваний, включающий введение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента субъекту, нуждающемуся в лечении, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 5 или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5.

33. Способ лечения заболевания, вызванного нейтропенией, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, антитела или связывающего фрагмента указанного антитела по любому из пп. 1-24.

34. Способ по п. 33, где указанная нейтропения вызвана высокими уровнями C5a.

35. Способ по любому из пп. 28-33, где указанное заболевание представляет собой АНЦА-васкулит или волчанку.

36. Способ по любому из пп. 28-33, где указанное нарушение представляет собой ревматоидный артрит.

37. Способ по любому из пп. 28-33, где указанное нарушение представляет собой нарушение функции почек.

38. Способ ингибирования передачи сигналов с участием C5a с применением моноклонального антитела, которое связывается с C5aR1, где указанное моноклональное антитело содержит:

вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 14; и

вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере 90% идентична SEQ ID NO: 25.

39. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий первый антигенсвязывающий домен, содержащий VH1 и VL1, которые связывают C5aR1, имеющий SEQ ID NO: 3, и второй антигенсвязывающий домен, содержащий VH2 и VL2, которые связывают C5aR1, имеющий SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.
40. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий первый антигенсвязывающий домен, содержащий VH1 и VL1, которые связывают C5aR1, имеющий SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2, и второй антигенсвязывающий домен, содержащий VH2 и VL2, которые связывают C5aR1, имеющий SEQ ID NO: 3.
41. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 39 или п. 40, где указанная VH1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 или по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 14.
42. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 39 или п. 40, где указанная VL1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 или по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 15.
43. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 39 или п. 40, где указанная VH2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 или по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 16.
44. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 39 или п. 40, где указанная VL2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 или по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17.
45. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 12 или по меньшей мере на 85% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12.
46. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 13 или по меньшей мере на 85% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13.
47. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 12 или по меньшей мере на 85% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, дополнительно содержащий легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 13 или по меньшей мере на 85% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13.
48. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-47, где указанная тяжелая цепь содержит указанную VH1, связанную с доменом Fc.
49. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 48, где указанный домен Fc дополнительно связан с scFv, содержащим VH2, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16, и/или VL2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17.

50. Бипаратопное антитело или антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 48 или п. 49, где указанный домен Fc независимо выбран из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

51. Бипаратопное антитело или антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 49, где указанный scFv связан с указанным доменом Fc за счет линкера.

52. Бипаратопное антитело по п. 51, отличающееся тем, что указанный линкер содержит по меньшей мере 5 аминокислот, содержащих аминокислотную последовательность с любой из SEQ ID NO: 26-37.

53. Бипаратопное антитело по п. 49, отличающееся тем, что указанная VH2, содержащая SEQ ID NO: 16, и указанная VL2, содержащая SEQ ID NO: 17, связаны друг с другом линкером.

54. Бипаратопное антитело по п. 53, отличающееся тем, что указанный линкер содержит 1-10 повторов SEQ ID NO: 31.

55. Бипаратопное антитело по п. 49, отличающееся тем, что указанная VH2 и указанная VL2 дополнительно содержат одну или более мутаций для улучшения термической стабильности указанного бипаратопного антитела.

56. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 55, где указанная мутация предусматривает включение цистеина в положение 559 из SEQ ID NO: 12 и в положение 630 из SEQ ID NO: 12.

57. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-56, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует взаимодействие компонента комплемента 5a (C5a) с человеческим C5aR1.

58. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-57, где указанное антитело не связывается с C5aR2.

59. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-58, где указанное антитело или антигенсвязывающий фрагмент является гуманизированным.

60. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-59, где указанное антитело или антигенсвязывающий фрагмент не реагируют перекрестно с мышинным C5aR1.

61. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.

39-60, где указанное антитело является стабильным при 4°C до 2 недель с одним циклом замораживания-оттаивания.

62. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-61, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует хемотаксис нейтрофилов.

63. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-62, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует хемотаксис нейтрофилов в присутствии высокой концентрации C5a.

64. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-62, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует хемотаксис нейтрофилов в присутствии концентрации C5a, составляющей по меньшей мере 10 нМ.

65. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-64, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует C5a-опосредуемую передачу сигналов с участием C5aR1 Gα.

66. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-65, где указанное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует передачу сигналов с участием кальция.

67. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-66, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует экспрессию CD11b.

68. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-67, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует нейтропению.

69. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-61, где связывание указанного антитела с C5aR1 ингибирует передачу сигналов с участием β-аррестина.

70. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 39-61, где указанное антитело, связывающееся с C5aR1, ингибирует продуцирование АФК в нейтрофилах.

71. Нуклеиновая кислота, кодирующая бипаратопное антитело по любому из пп. 39-68.

72. Клетка, содержащая нуклеиновую кислоту по п. 71.

73. Способ получения бипаратопного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 39-70, где указанный способ включает культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, культивирование указанной клетки в условиях, которые обеспечивают продуцирование указанного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

74. Способ лечения аутоиммунных заболеваний с применением бипаратопного

антитела, где указанное антитело связывает человеческий рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1) и содержит:

- a. первую VH и первую VL, VH1 и VL1, причем указанная VH1 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 14, и указанная VL1 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 15, и
 - b. вторую VH и вторую VL, VH2 и VL2, причем указанная VH2 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 16, и указанная VL2 содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 17.
75. Способ лечения заболевания, вызванного нейтропенией, с применением антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в соответствии с указанным бипаратопным антителом по любому из предыдущих пунктов.
76. Способ по любому из пп. 73-75, где указанная нейтропения вызвана высокими уровнями C5a.
77. Способ по любому из пп. 73-76, где указанное заболевание представляет собой АНЦА-васкулит или волчанку.
78. Способ по любому из пп. 73-77, где указанное нарушение представляет собой ревматоидный артрит.
79. Способ по любому из пп. 73-78, где указанное нарушение представляет собой нарушение функции почек.
80. Способ по любому из пп. 73-78 или 27-33, где указанное нарушение представляет собой инсульт.
81. Моноспецифичное или бипаратопное антитело к C5aR1 по любому из предыдущих пунктов, отличающееся тем, что указанное антитело содержит модифицированные константные домены IgG1, IgG4 или IgG2.
82. Антитело по п. 81, отличающееся тем, что указанный C5aR1 содержит модифицированный домен Fc IgG4.
83. Антитело по п. 82, отличающееся тем, что указанный модифицированный домен Fc IgG4 содержит замены в положениях F234, L235 и/или D265.
84. Антитело по п. 83, отличающееся тем, что указанная замена Fc IgG4 в положении F234 представляет собой гидрофобную аминокислоту, выбранную из аланина, валина, лейцина, изолейцина, фенилаланина или триптофана.

85. Антитело по п. 83, отличающееся тем, что указанная замена Fc IgG4 в положении F234 представляет собой валин.
86. Антитело по п. 83, отличающееся тем, что указанная замена Fc IgG4 в положении L235 представляет собой кислую аминокислоту.
87. Антитело по п. 86, отличающееся тем, что указанная замена Fc IgG4 в положении L235 представляет собой кислую аминокислоту, выбранную из глутамата или аспартата.
88. Антитело по п. 86, отличающееся тем, что указанная замена Fc IgG4 в положении L235 представляет собой аспартат.
89. Антитело по п. 83, отличающееся тем, что указанная замена Fc IgG4 в положении D265 представляет собой неполярную аминокислоту.
90. Антитело по п. 89, отличающееся тем, что указанная замена Fc IgG4 в положении D265 представляет собой неполярную аминокислоту, выбранную из аланина, цистеина, глицина, изолейцина, лейцина, метионина и валина.
91. Антитело по п. 89, отличающееся тем, что указанная замена Fc IgG4 в положении D265 представляет собой глицин.
92. Антитело по любому из предыдущих пунктов, отличающееся тем, что указанное антитело дополнительно содержит замену в S228.
93. Антитело по п. 92, отличающееся тем, что указанная замена в S228 представляет собой пролин.
94. Моноспецифичное или бипаратопное антитело к C5aR1 по любому из предыдущих пунктов, отличающееся тем, что указанное антитело содержит модифицированный константный домен IgG4, содержащий комбинацию замен F234V, L235E и D265G.
95. Способ снижения или предотвращения антителозависимой цитотоксичности, антителозависимого фагоцитоза и/или комплементзависимой цитотоксичности с применением моноспецифичного или бипаратопного антитела к C5aR1 по любому из пп. 81-94.
96. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5а типа 1 (C5aR1), содержащий:
вариабельную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 14;
вариабельную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 25; и
модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G.
97. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5а типа 1 (C5aR1), содержащий:
вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую HCDR1, имеющий SEQ ID NO: 6 (NYWMH), HCDR2, имеющий SEQ ID NO: 7 (YLNPSGGYTKYAQKFQG), и

HCDR3, имеющий SEQ ID NO: 8 (SGGDNYGNPYYFDR);

вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую LCDR1, имеющий SEQ ID NO: 9 (RASQSIVHSNGNTYLH), LCDR2, имеющий SEQ ID NO: 10 (KVSNRFS), и LCDR3, имеющий SEQ ID NO: 11 (AQYTLVPLT); и

модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G.

98. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащий тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 69, и легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 70.

99. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a (C5aR1), содержащий:

легкую цепь, содержащую LCDR1, имеющий SEQ ID NO: 9 (RASQSIVHSNGNTYLH), LCDR2, имеющий SEQ ID NO: 10 (KVSNRFS), и LCDR3, имеющий SEQ ID NO: 21 (AQSTLVPLT); и

тяжелую цепь, содержащую: HCDR1, имеющий SEQ ID NO: 6 (NYWMH), HCDR2, имеющий SEQ ID NO: 7 (YLNPSGGYTKYAQKFQG), и HCDR3, имеющий SEQ ID NO: 8 (SGGDNYGNPYYFDR);

модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G; и

scFv, содержащий LCDR4, имеющий SEQ ID NO: 22 (RSSQSLVHSNGNTYLN), LCDR5, имеющий SEQ ID NO: 23 (KVSNRSL), LCDR6, имеющий SEQ ID NO: 24 (SQSTHVPYT), HCDR4, имеющий SEQ ID NO: 18 (AYAMS), HCDR5, имеющий SEQ ID NO: 19 (SISTGGNTYYADSVKG), и HCDR6, имеющий SEQ ID NO: 20 (GYQRFSGFAY),

причем указанный scFv связан с указанным модифицированным доменом Fc.

100. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a (C5aR1), содержащий:

первую вариабельную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 15;

первую вариабельную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 14;

модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G; и

scFv, содержащий вторую вариабельную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 17, и вторую вариабельную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 16,

причем указанный scFv связан с указанным модифицированным доменом Fc.

101. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a (C5aR1), содержащий легкую цепь, имеющую SEQ ID NO: 72, и тяжелую цепь, имеющую SEQ ID NO: 71.

102. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает

рецептор компонента комплемента 5a (C5aR1), содержащий:

первую переменную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 25;
первую переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 14; и
scFv, содержащий вторую переменную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 17, и вторую переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 16,

причем указанный scFv связан с доменом Fc.

103. Бипаратопное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 102, дополнительно содержащий модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G, так что указанный scFv связан с указанным модифицированным доменом Fc.

104. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащий:

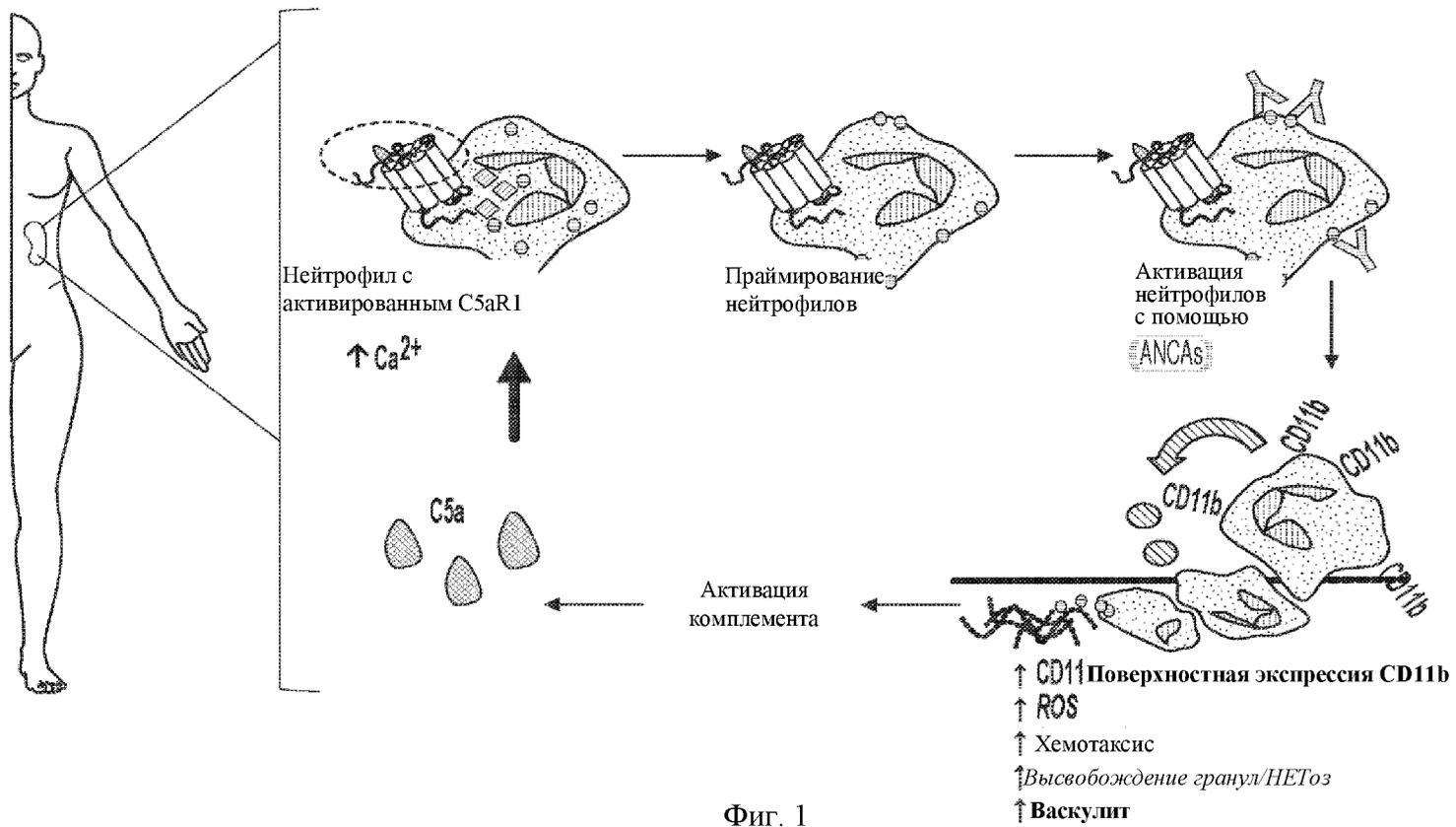
переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 43; и
переменную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 48.

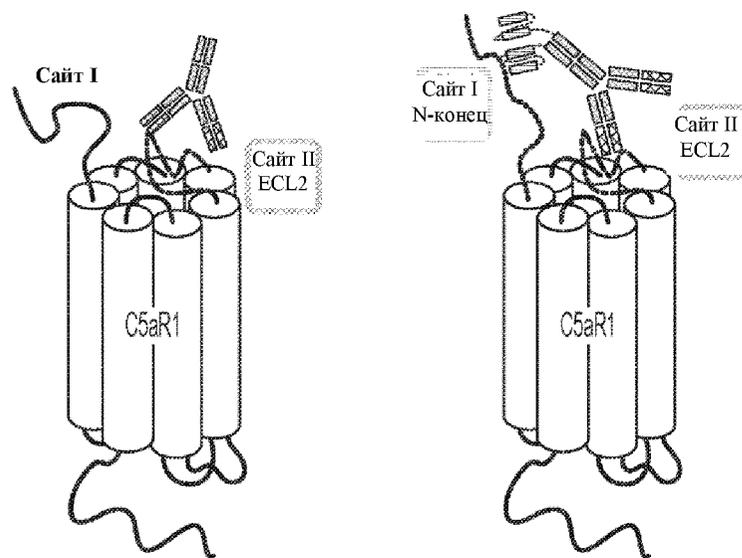
105. Антитело по п. 104, дополнительно содержащее модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G.

106. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает рецептор компонента комплемента 5a типа 1 (C5aR1), содержащий:

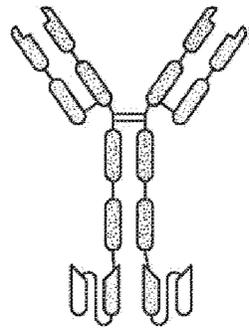
переменную область тяжелой цепи (VH), имеющую SEQ ID NO: 14; и
переменную область легкой цепи (VL), имеющую SEQ ID NO: 15.

107. Антитело по п. 106, дополнительно содержащее модифицированный домен Fc, содержащий замены F234V, L235E и D265G.

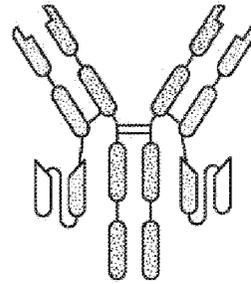




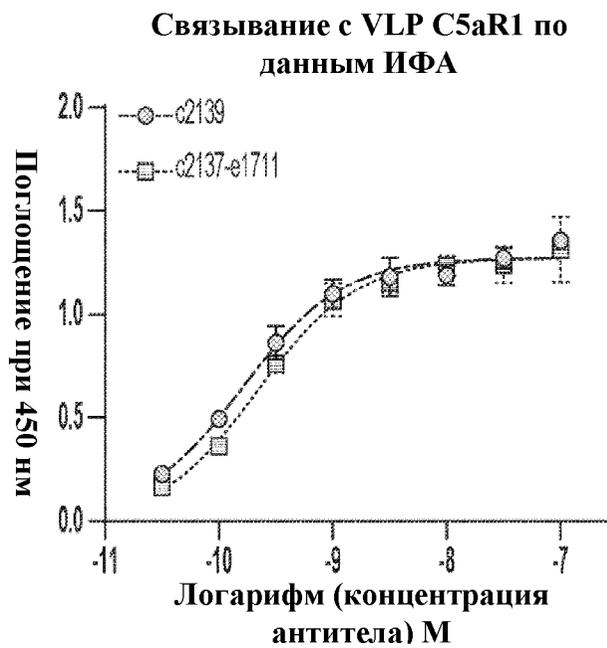
Фиг. 2



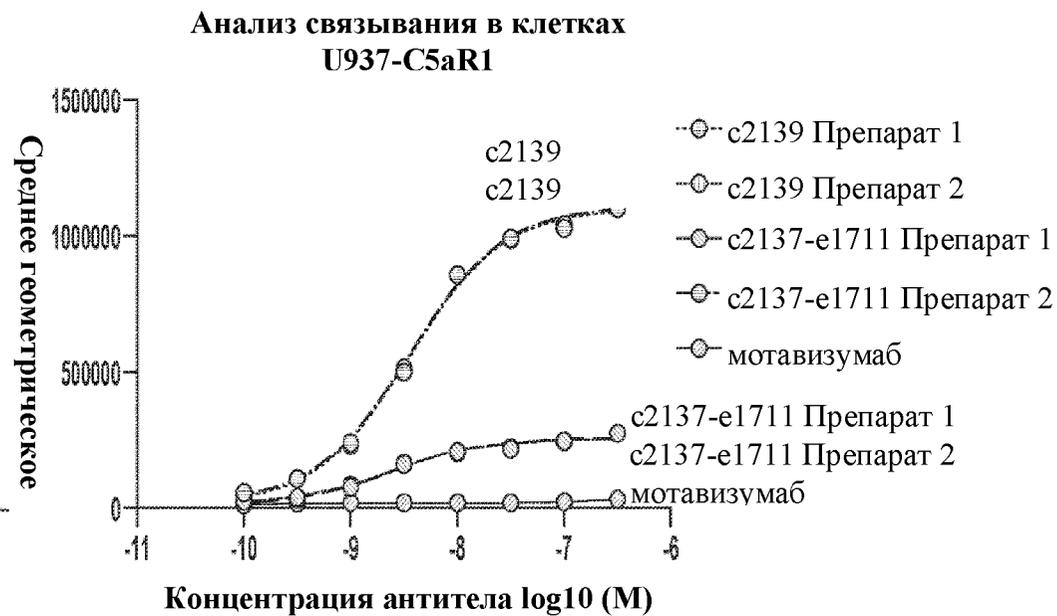
Фиг. 3А



Фиг. 3В

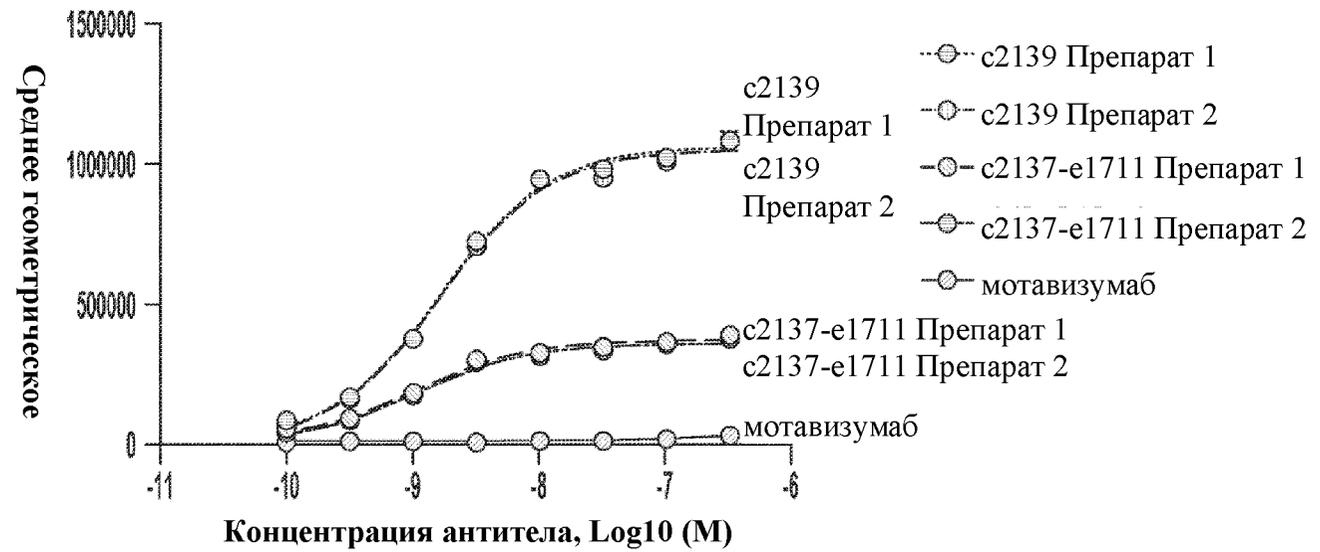


Фиг. 4А



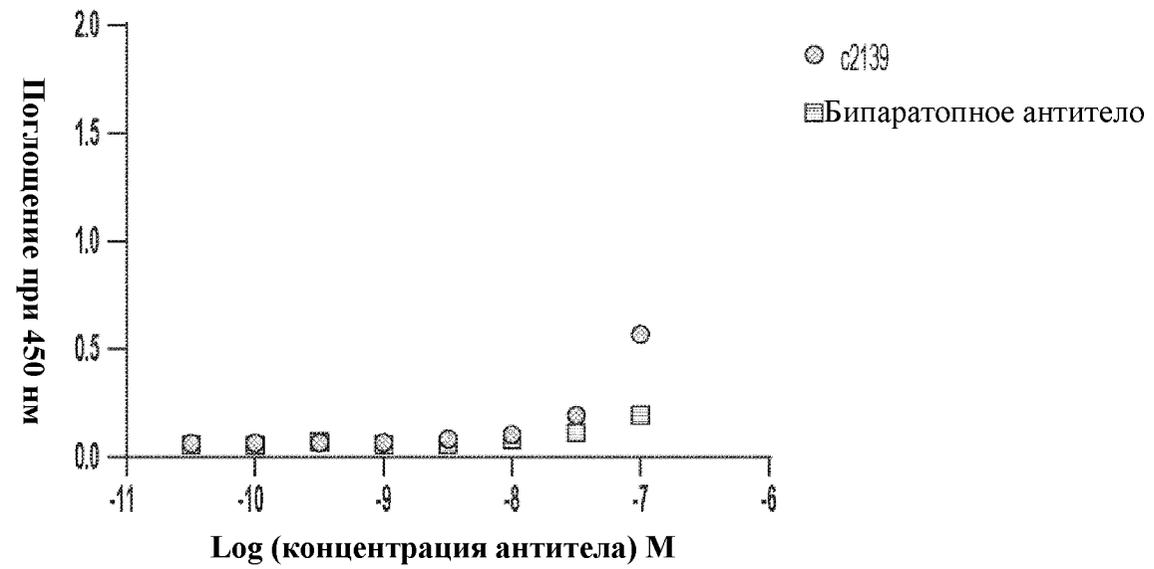
Фиг. 4В

Анализ связывания в человеческих
нейтрофилах

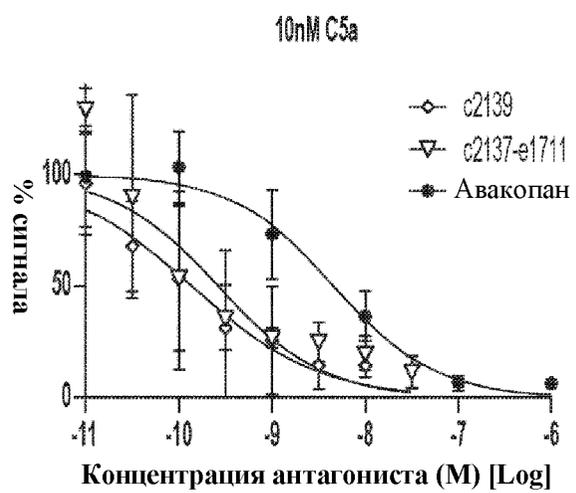


Фиг. 4С

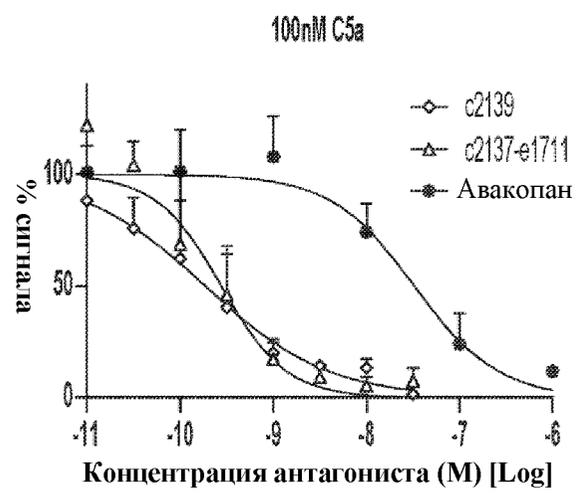
Связывание с VLP C5aR2 по данным ИФА



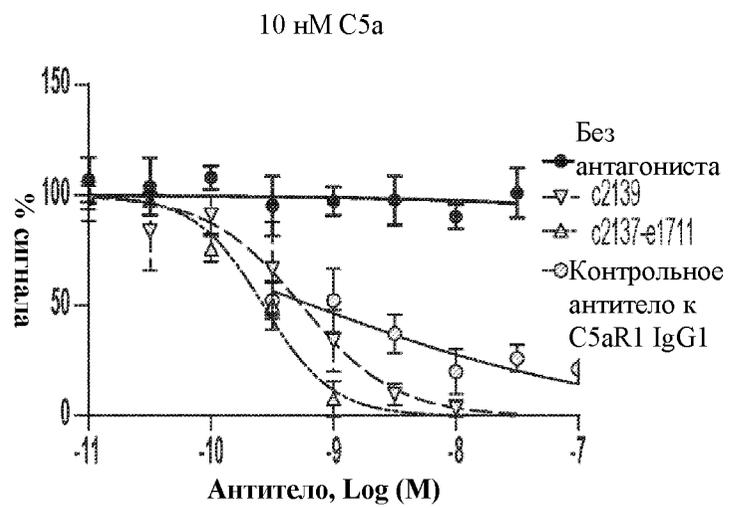
Фиг. 5



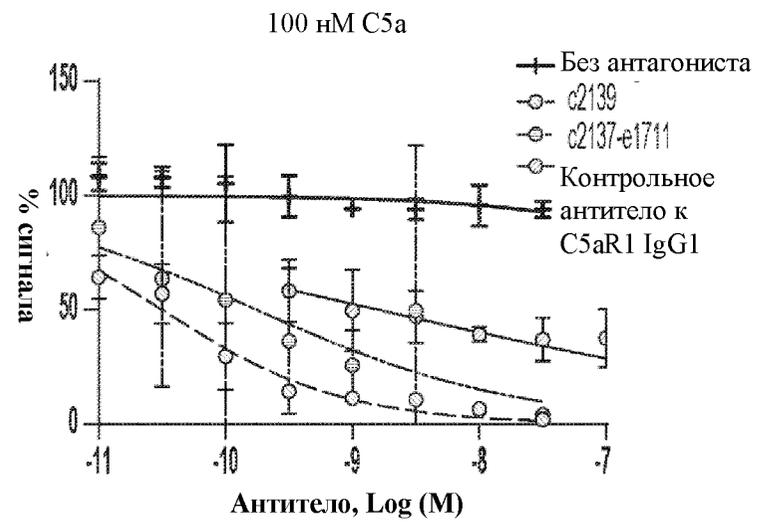
Фиг. 6А



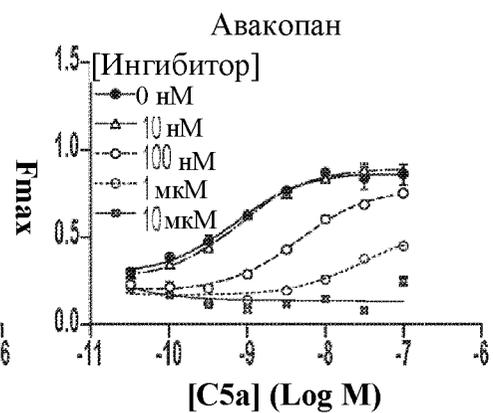
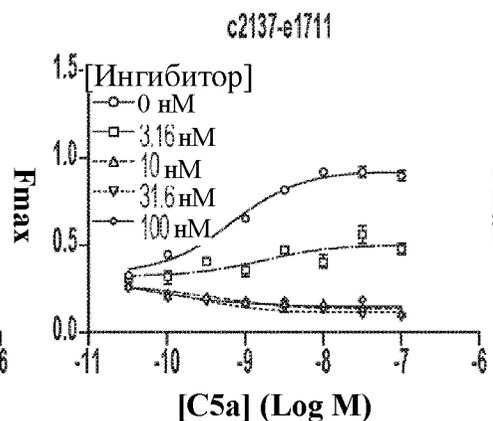
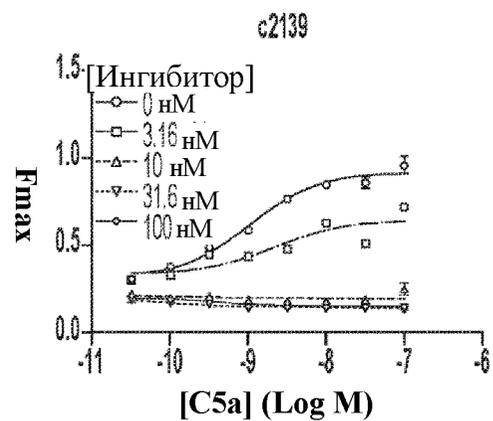
Фиг. 6В

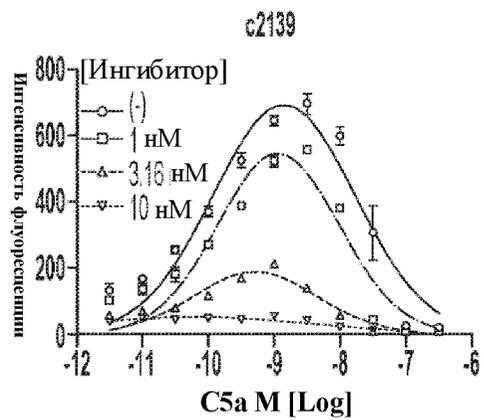


Фиг. 6C

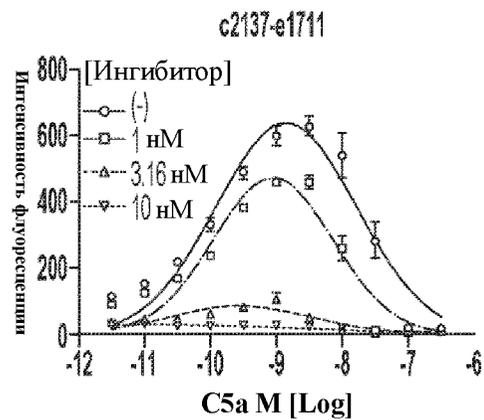


Фиг. 6D

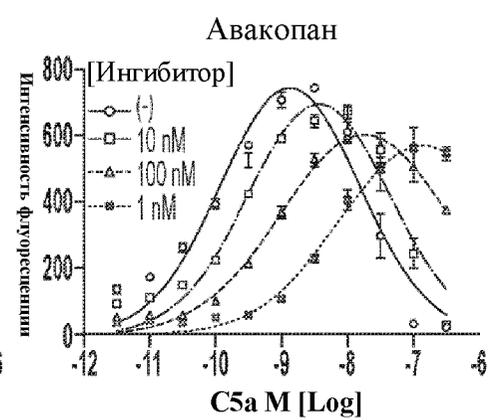




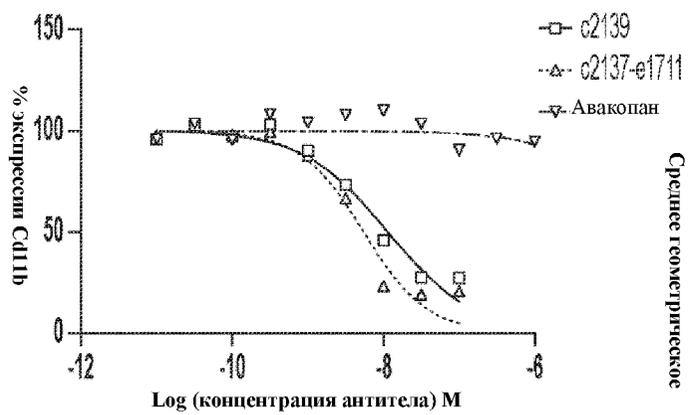
Фиг. 8А



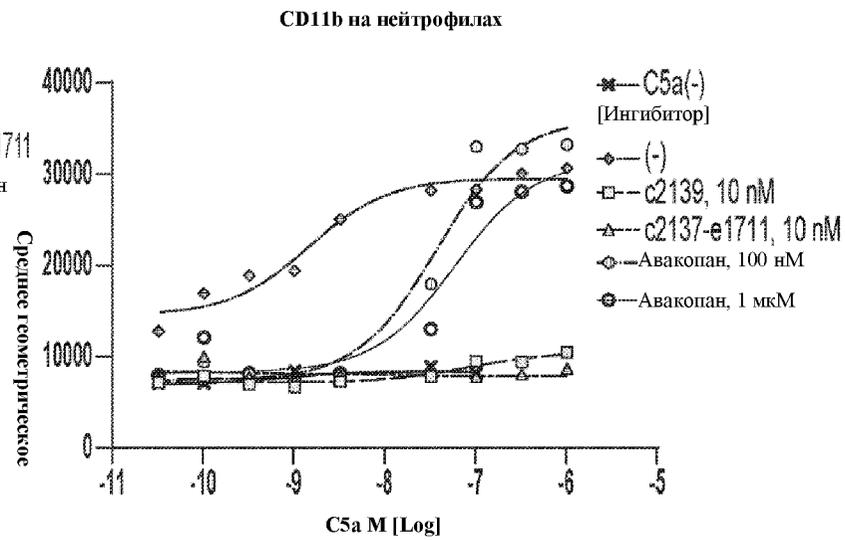
Фиг. 8В



Фиг. 8С

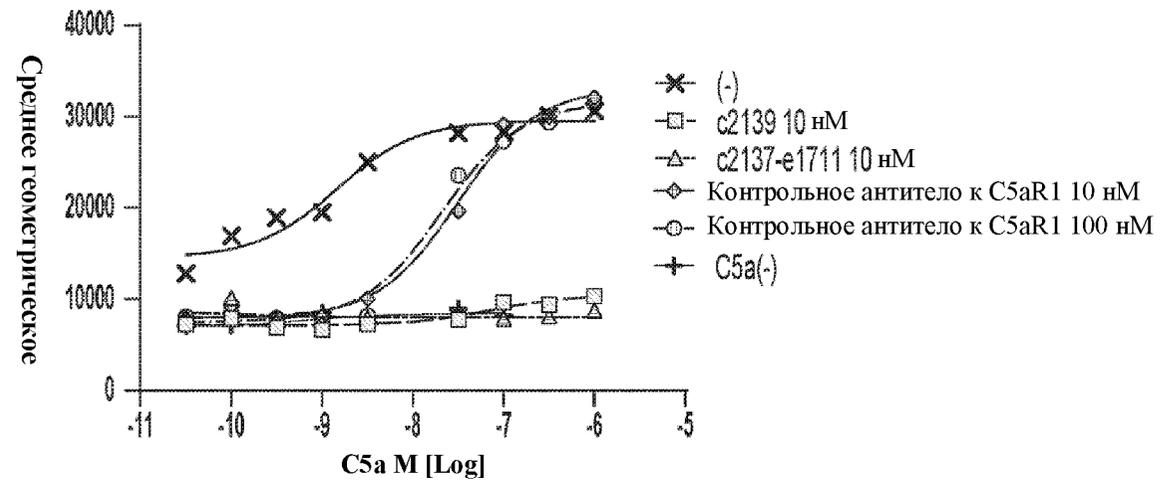


Фиг. 9А

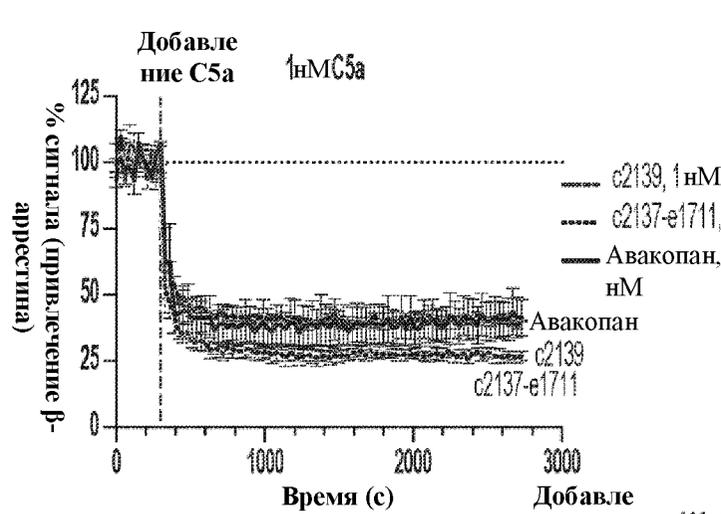


Фиг. 9В

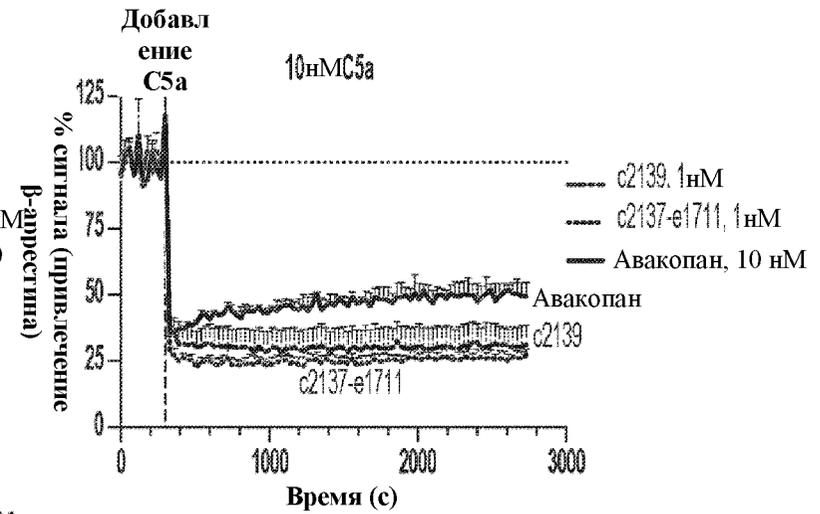
CD11b на нейтрофилах



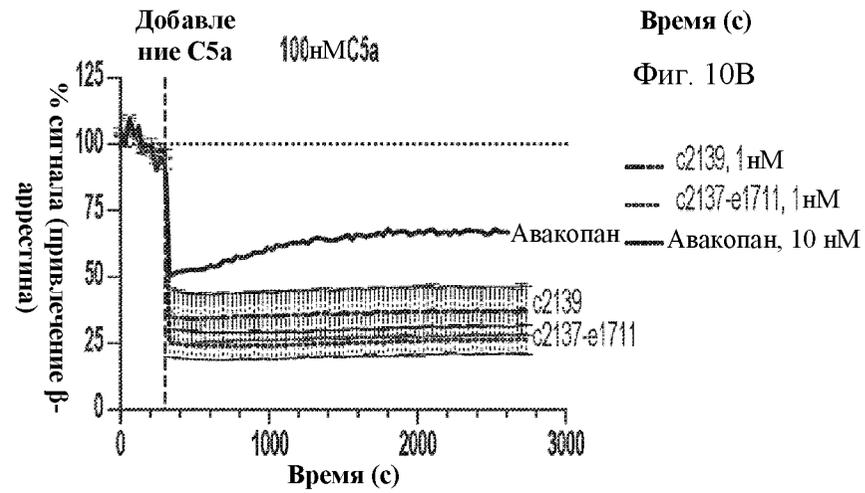
Фиг. 9С



Фиг. 10А

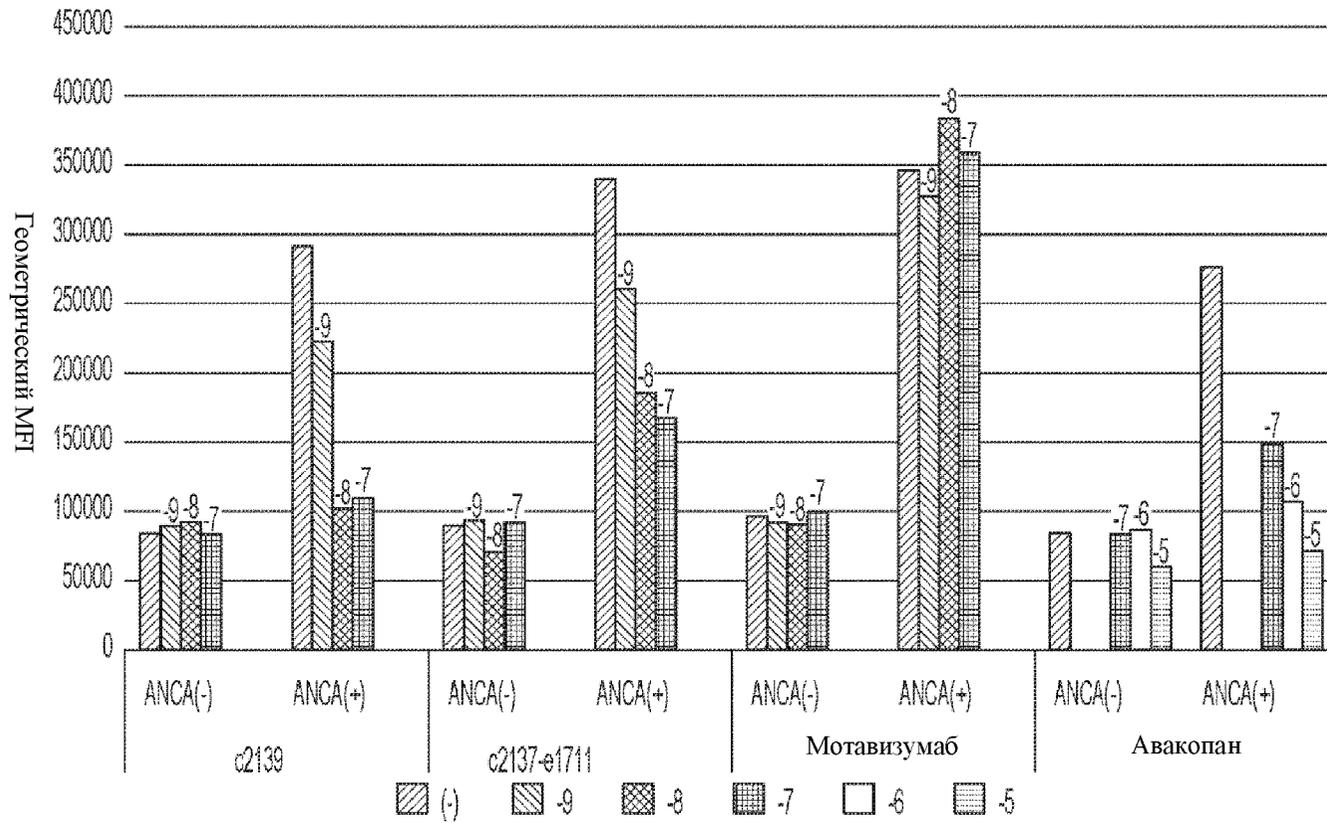


Фиг. 10В

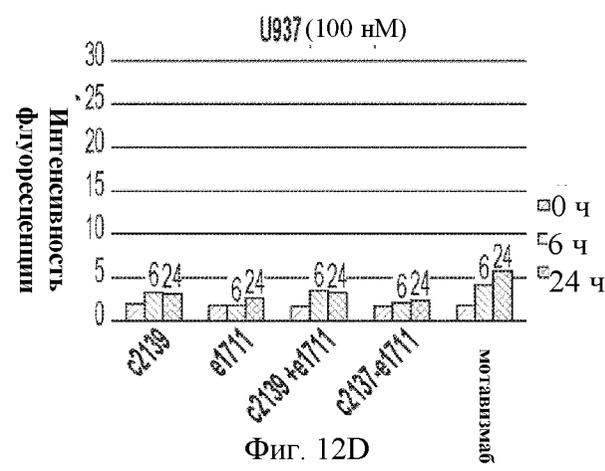
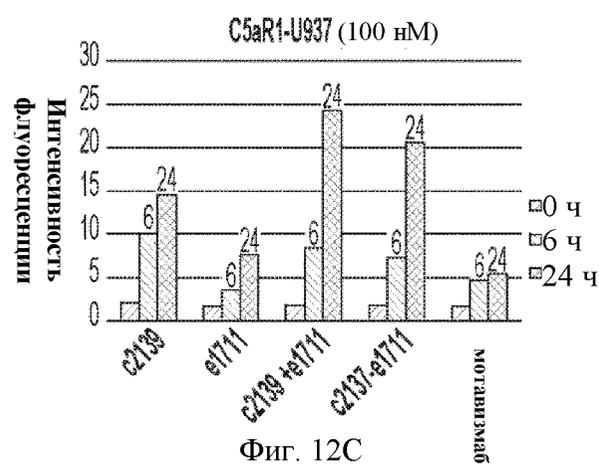
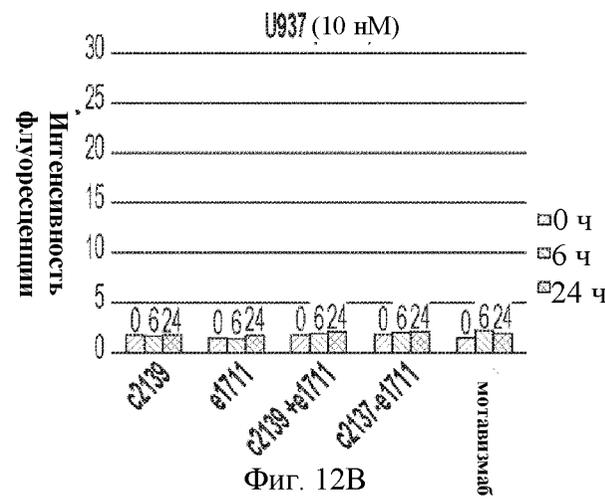
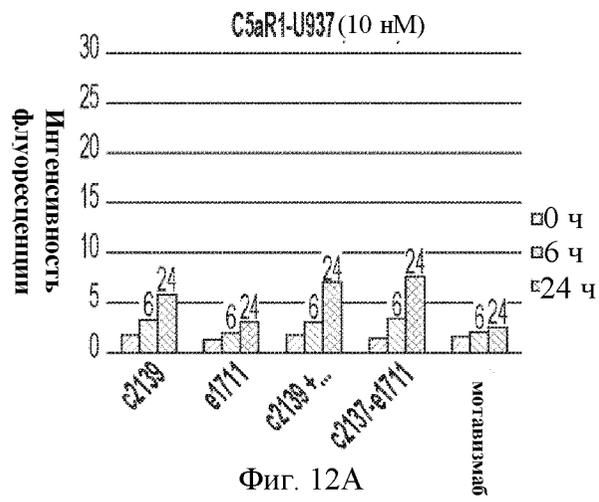


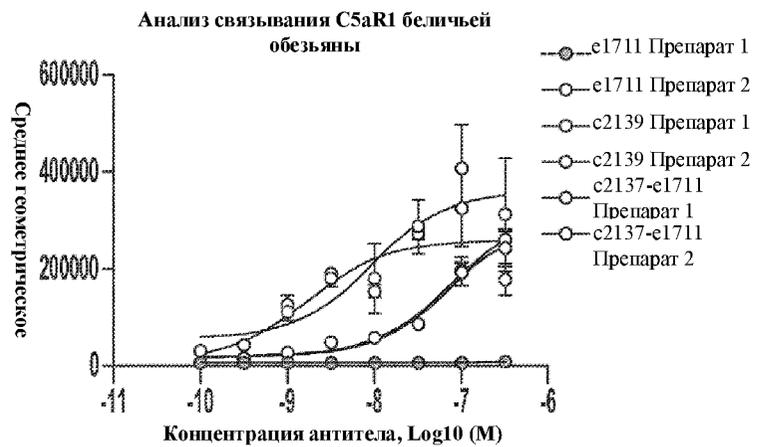
Фиг. 10С

Респираторный взрыв

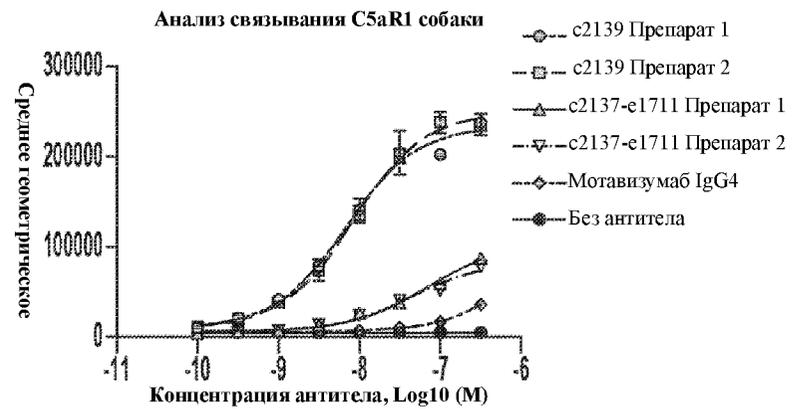


Фиг. 11



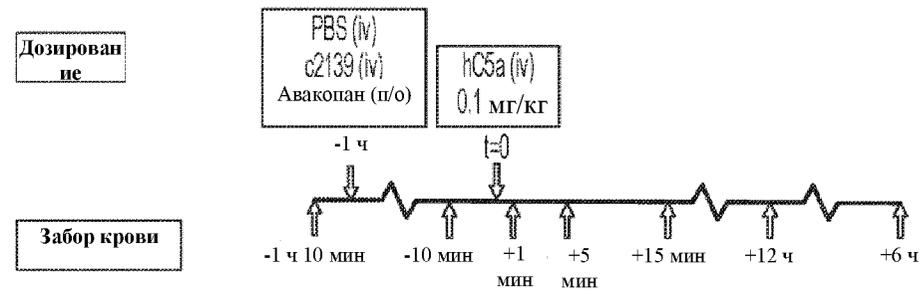


Фиг. 13А



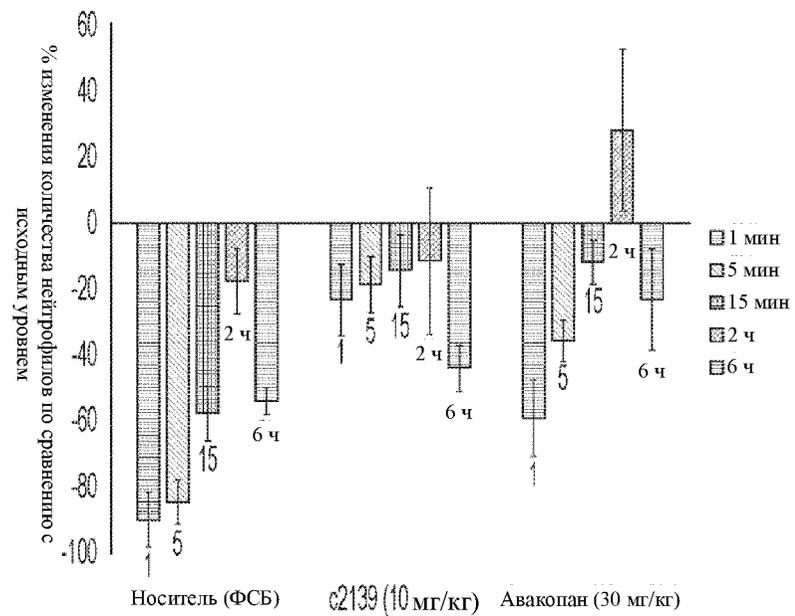
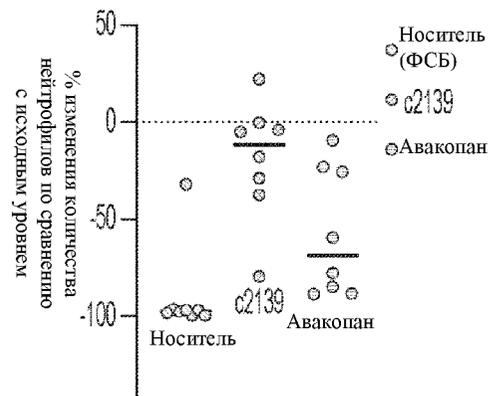
Фиг. 13В

Дизайн исследования нейтропении у белчих обезьян

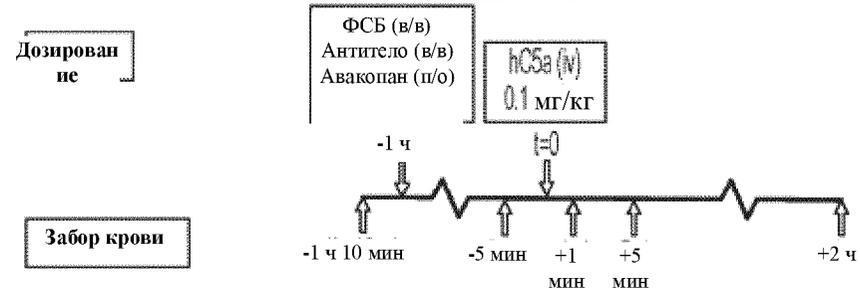


Группа	N	Путь введения дозы	Исследуемый препарат	Доза (мг/кг)
1	8	IV	Носитель (ФСБ)	0
2	8	IV	c2139 (PBS)	10
3	8	PO	Авакопан (солютол/ПЭГ 400 30:70)	30
Конечные точки	Значения массы тела и клинические наблюдения до и после эксперимента по подсчету нейтрофилов: До введения дозы TA, C5a, после дозы C5a до 6 ч			

Фиг. 14А



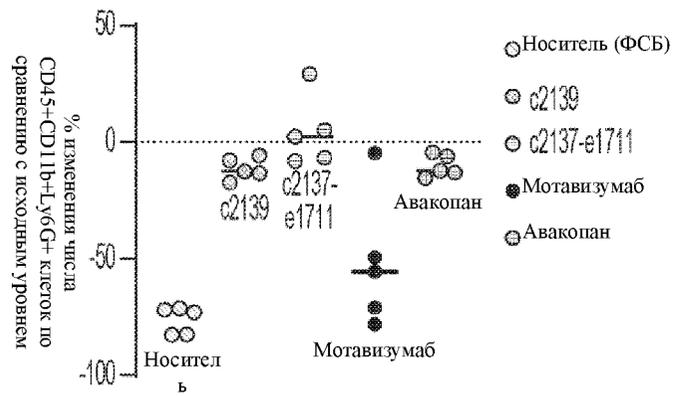
Дизайн исследования нейтропении на мышах с человеческим C5aR1



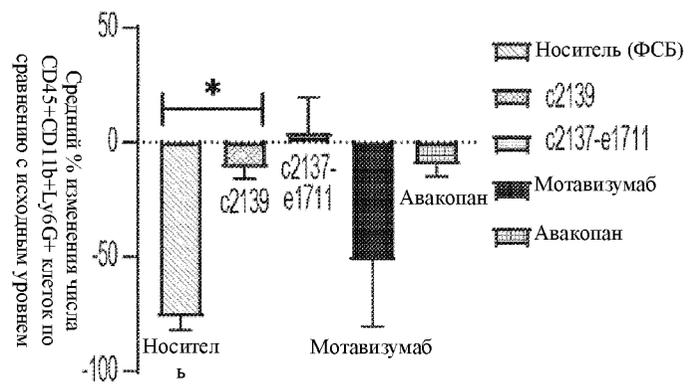
Группа	N	Путь введения дозы	Исследуемый препарат	Доза (мг/кг)
1	5	IV	Носитель (ФСБ)	0
2	5	IV	c2139 (PBS)	20
3	5	IV	c2137-e1711 (PBS)	20
4	5	IV	Мотавизумаб (ФСБ)	20
5	5	PO	Авакопан (солютол/ПЭГ400 30:70)	30

Конечные точки Сбор крови: До введения дозы TA, C5a, после введения дозы C5a до 2 ч. Анализ FACS для маркеров 7AAD, CD45, CD11b, Ly6G+, mCD88, hCD8B

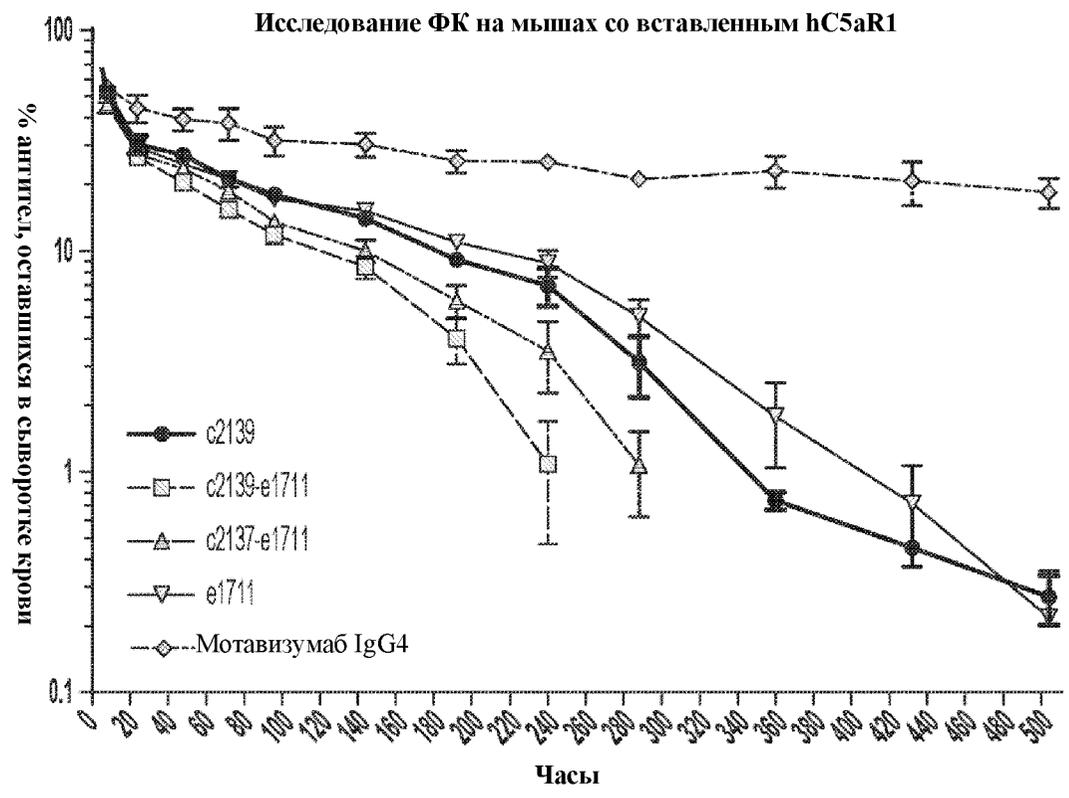
Фиг. 15А



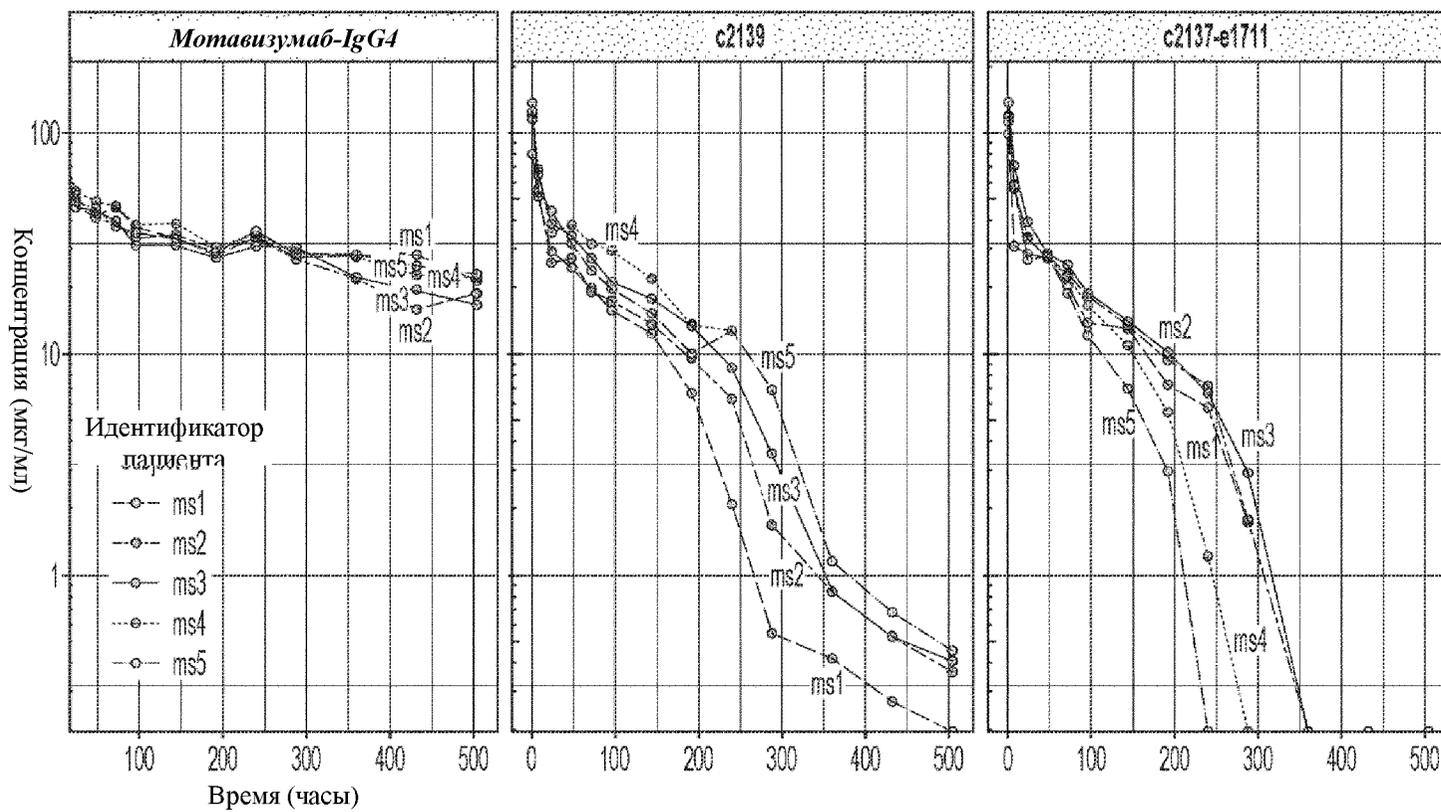
Фиг. 15В



Фиг. 15С



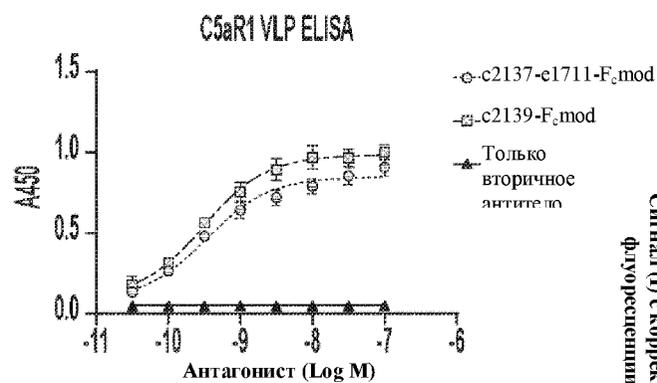
Фиг. 16А



Фиг. 16B

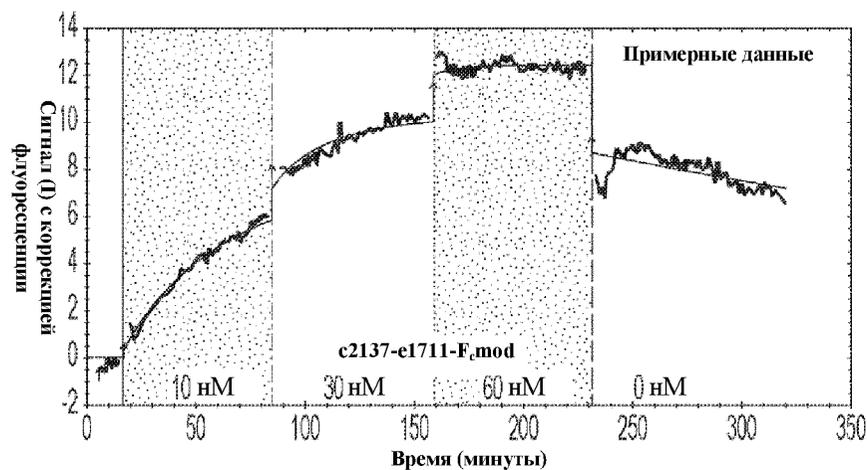
Фиг. 16C

Фиг. 16D



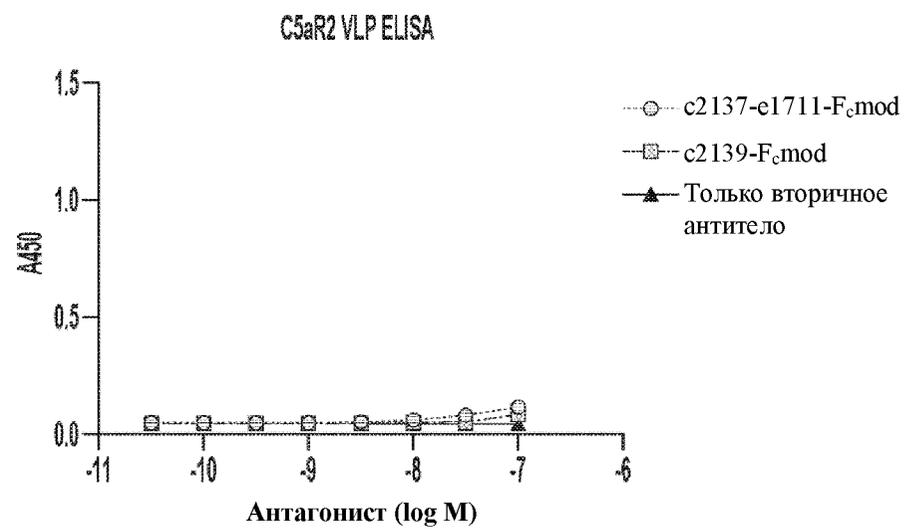
Антитело	EC ₅₀ (нМ)
<i>C2139-Fc.mod</i>	0.31
<i>C2137-e1711-Fc.mod</i>	0.34

Фиг. 17А

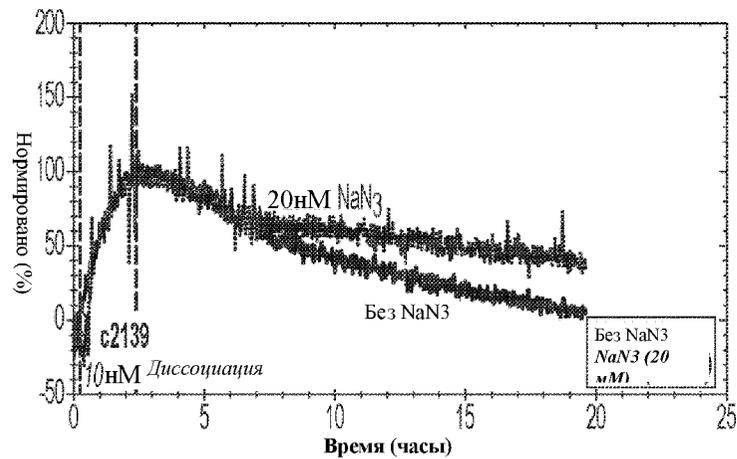


ka1 (1/(M*s))	kd1 (1/s)	KD1 (M)	ka2 (1/(M*s))	kd2 (1/s)	KD2 (M)
1.76e4	3.10e-5	1.77e-9	5.15e4	4.30e-5	8.34e-10

Фиг. 17В

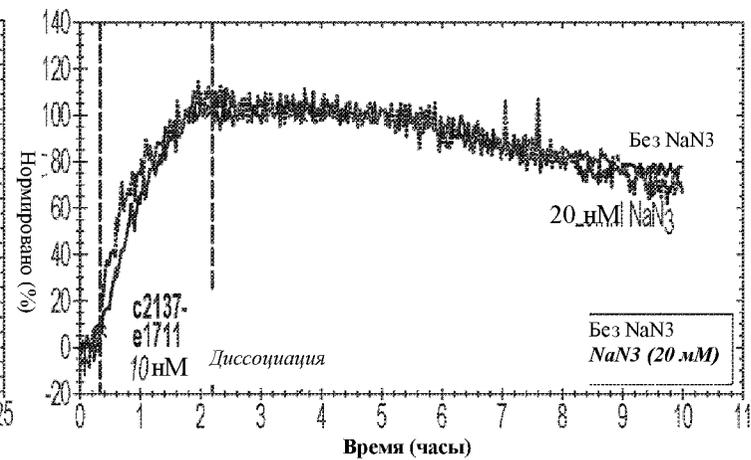


Фиг. 17С



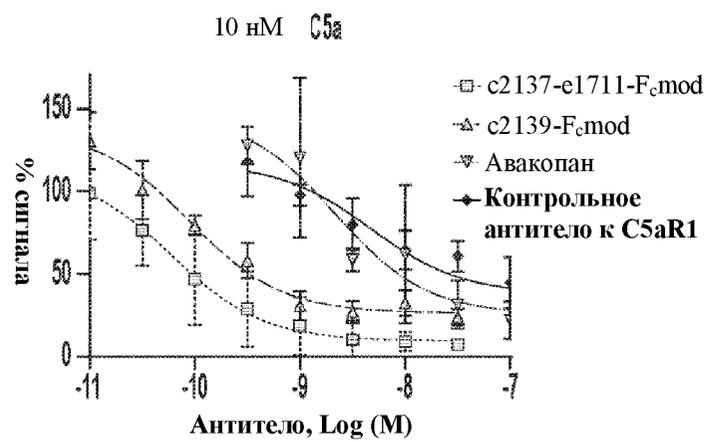
	Без NaN3	С NaN3
$K_a(1/(M*s))$	2.68e4	2.82e4
$K_d(1/s)$	3.4e-5	1.43e-5
KD(нМ)	1.27	0.507

Фиг. 18А

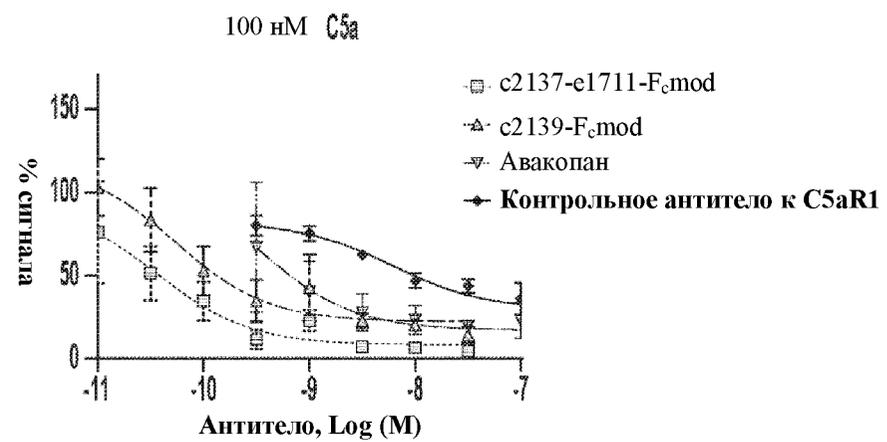


	Без NaN3	С NaN3
$K_a(1/(M*s))$	4.38e3	2.15e4
$K_d(1/s)$	1.36e-5	2.20e-5
KD(нМ)	0.423	0.539

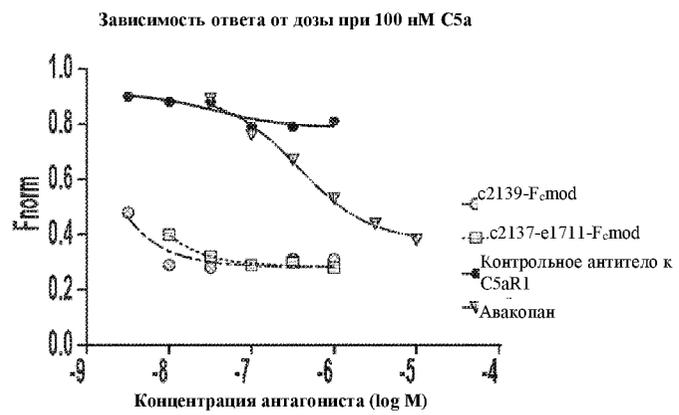
Фиг. 18В



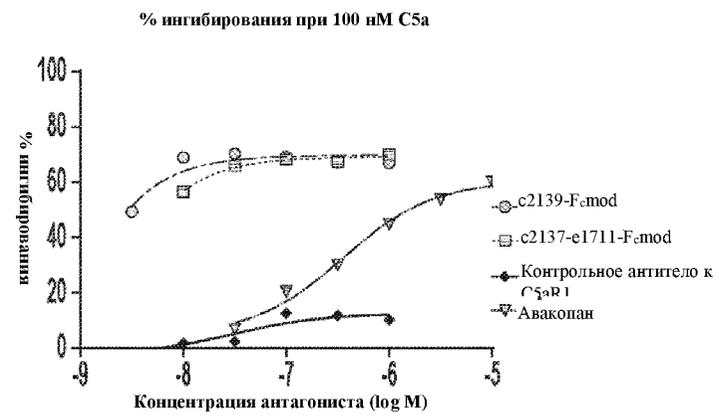
Фиг. 19А



Фиг. 19В



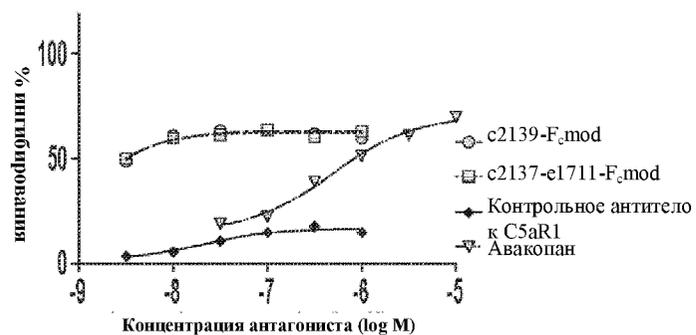
Фиг. 20А



Фиг. 20В

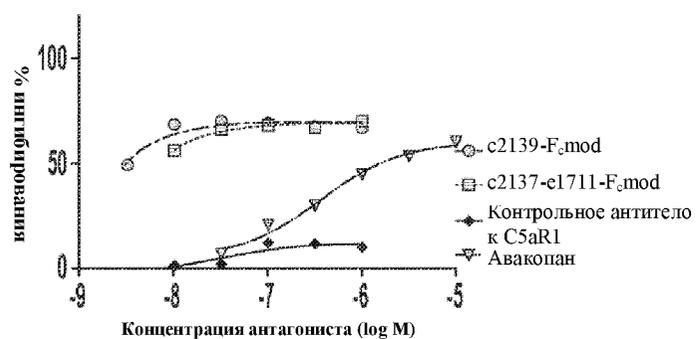
Клетки U937-C5aR1

% ингибирования при 10 нМ C5a



Фиг. 21А

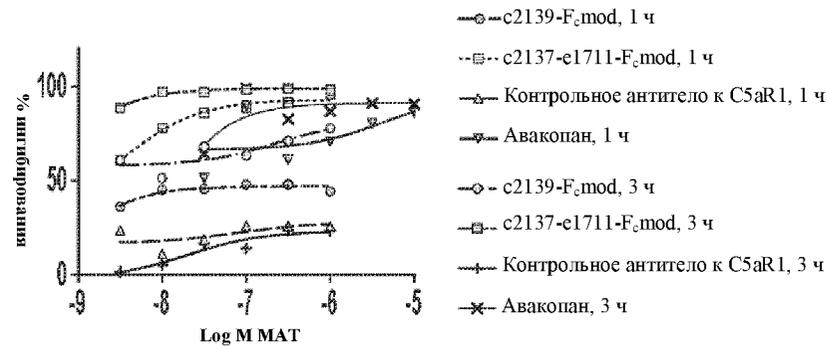
% ингибирования при 100 нМ C5a



Фиг. 21В

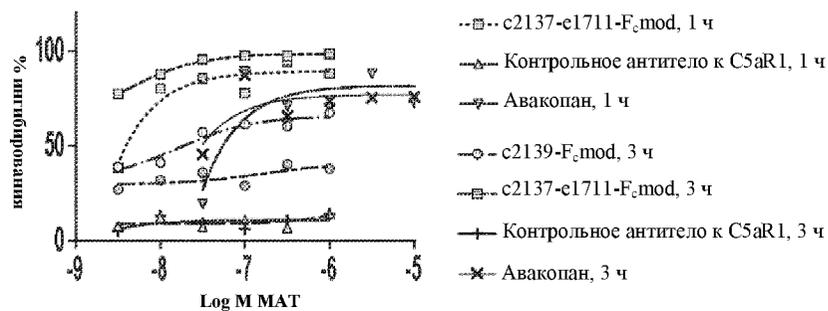
Нейтрофилы человека

% ингибирования при 10 нМ C5a

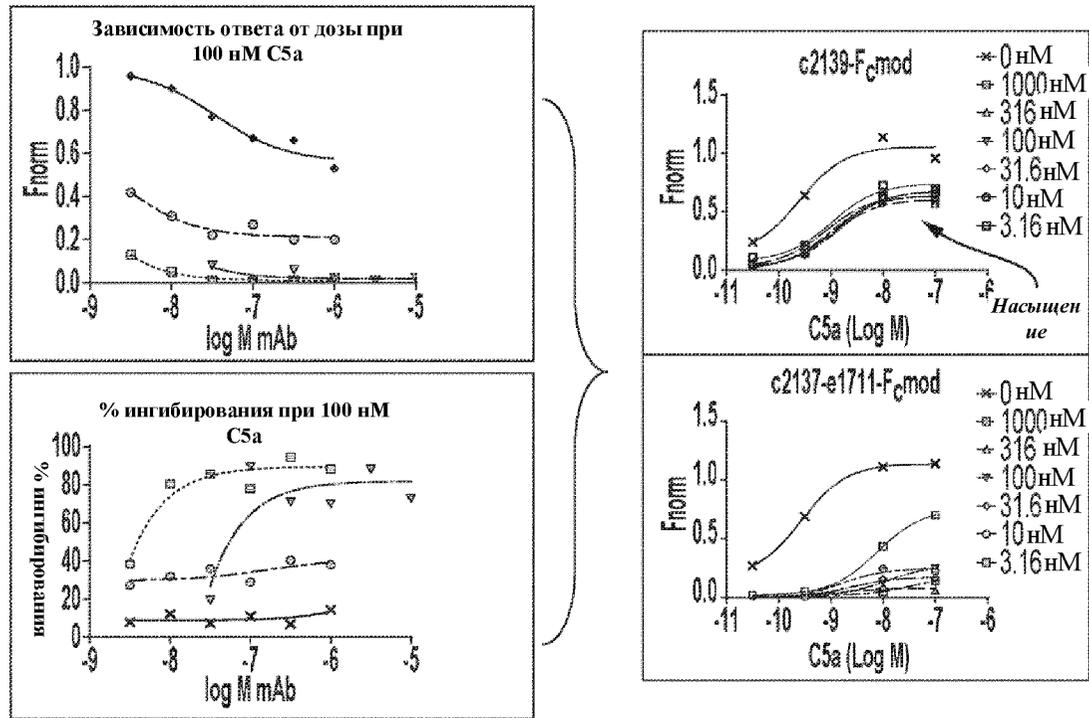


Фиг. 21С

% ингибирования при 100 нМ C5a

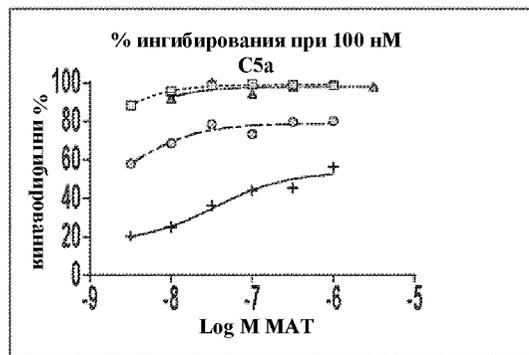
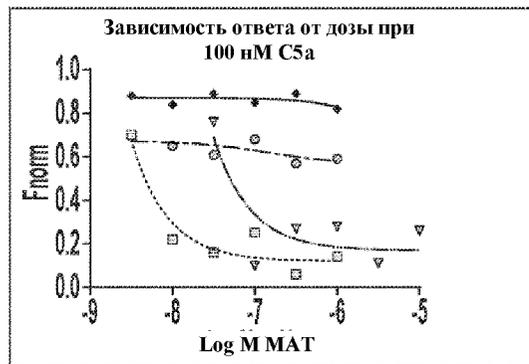


Фиг. 21D

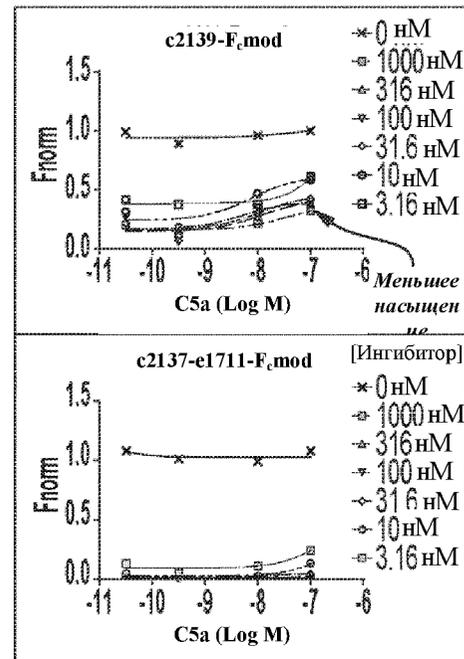


- ◐ c2139-F_cmod, 3 ч
- ▣ c2137-e1711-F_cmod, 3 ч
- ◊ Контрольное антитело к C5aR1, 3 ч
- ▽ Авакопан, 3 ч

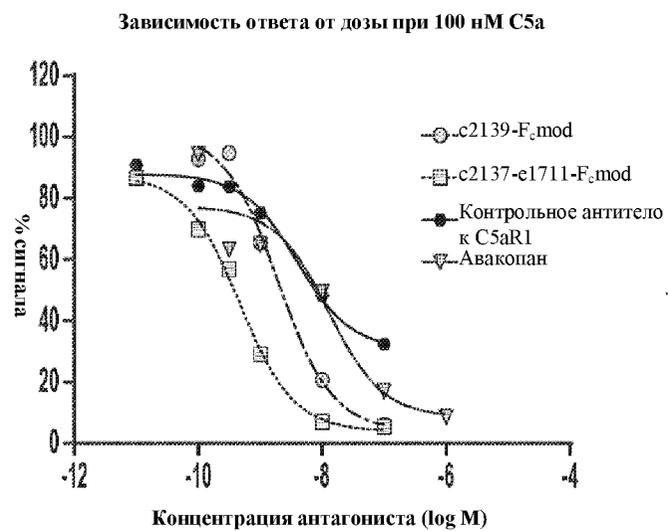
Фиг. 22А



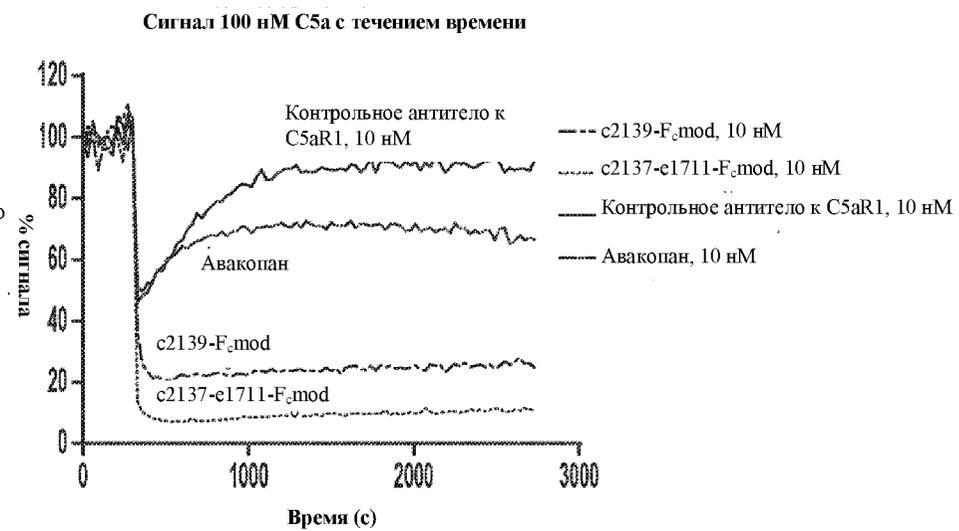
- c2139-Fc.mod, 3 ч
- c2137-e1711-Fcmod, 3 ч
- ◆ Контрольное антитело к C5aR1, 3 ч
- ▽ Авакопан, 3 ч



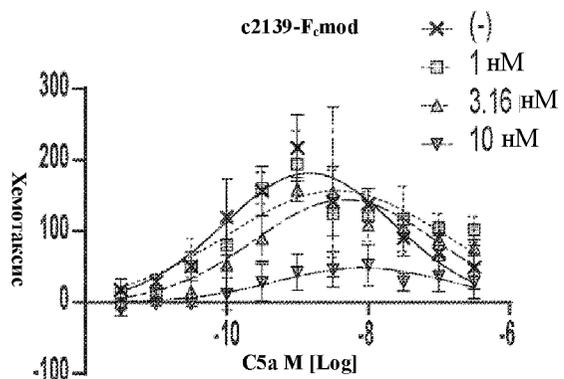
Фиг. 22В



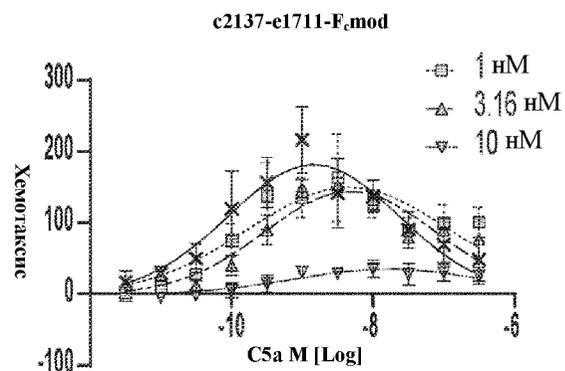
Фиг. 23А



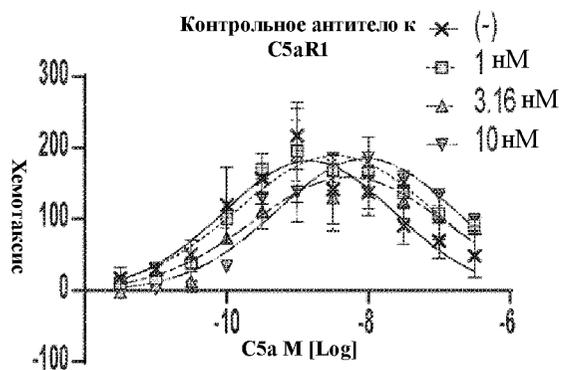
Фиг. 23В



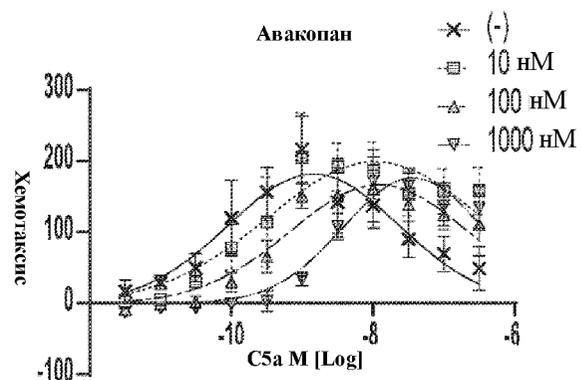
Фиг. 24А



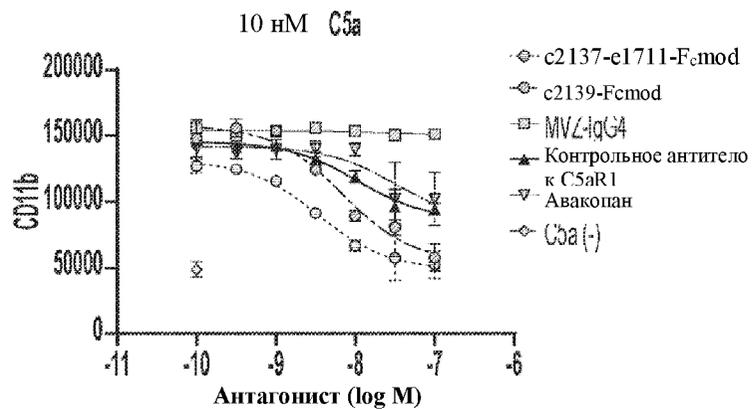
Фиг. 24В



Фиг. 24С

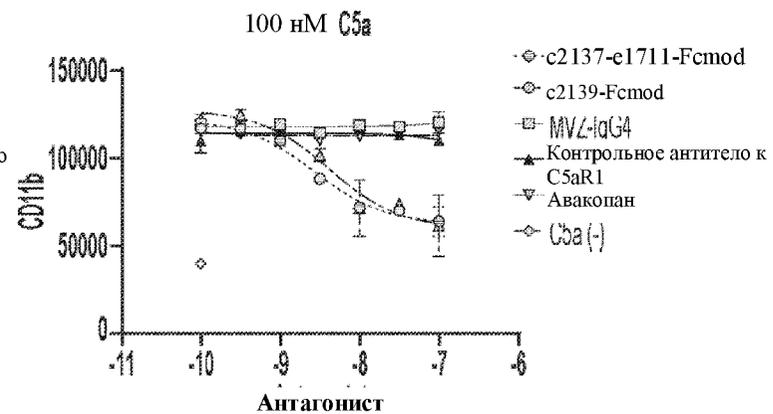


Фиг. 24D



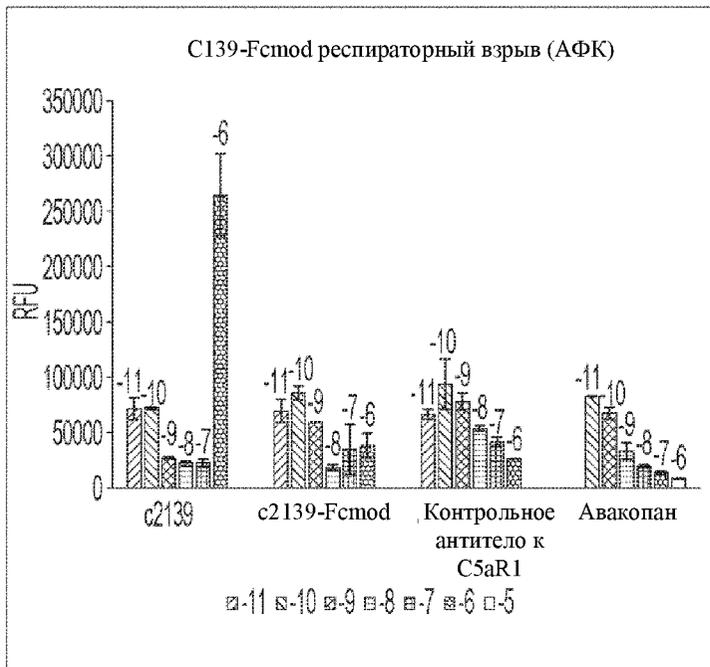
Антагонист	ИК50 (нМ) при 10 нМ C5a
c2139	6.9
c2137-e1711	3.4
Авакопан	10.6
Контрольное антитело к C5aR1	33.1

Фиг. 25А

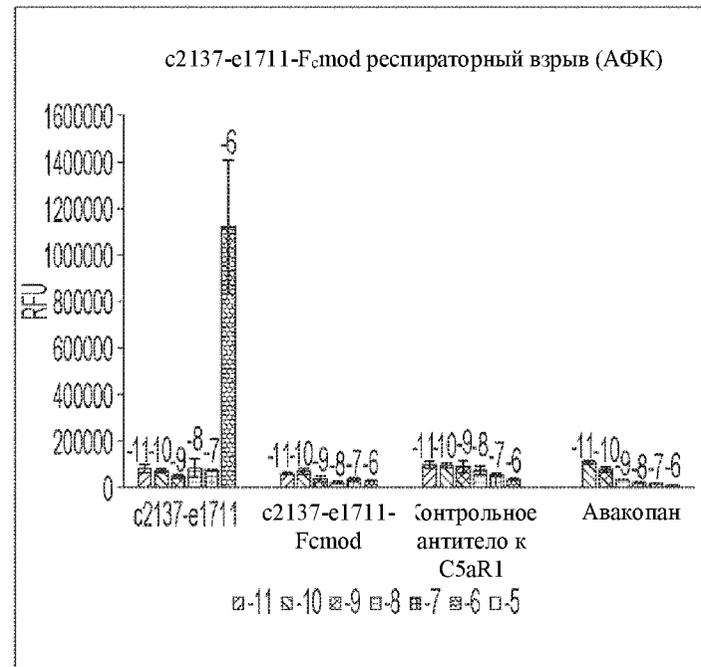


Антагонист	ИК50 (нМ) при 100 нМ C5a
c2139	4.2
c2137-e1711	2.7
Авакопан	Невозможно рассчитать
Контрольное антитело к C5aR1	Невозможно рассчитать

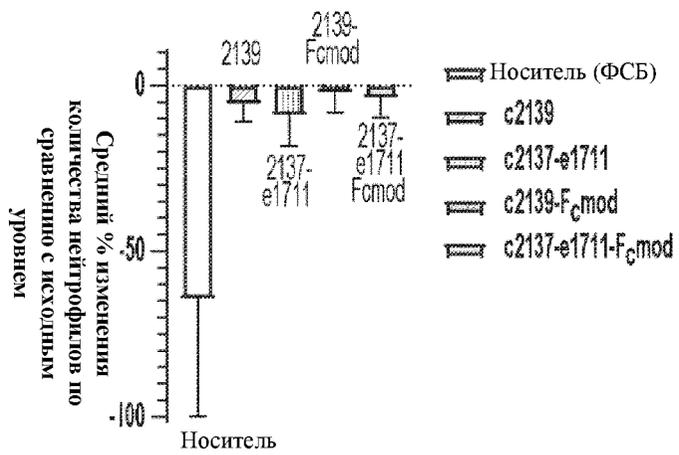
Фиг. 25В



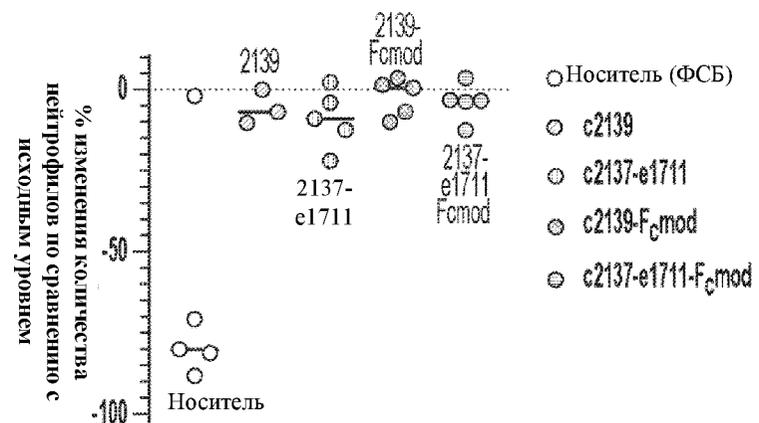
Фиг. 26А



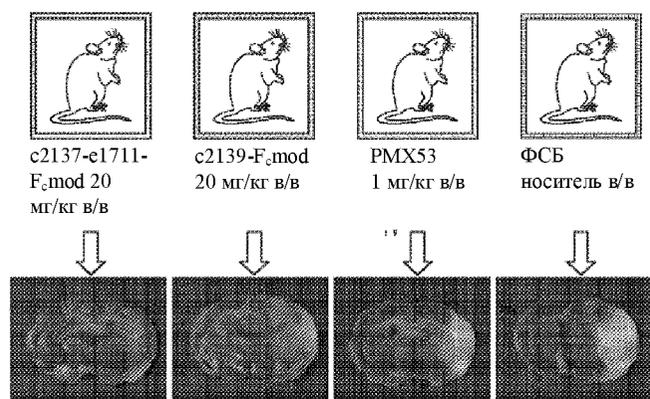
Фиг. 26В



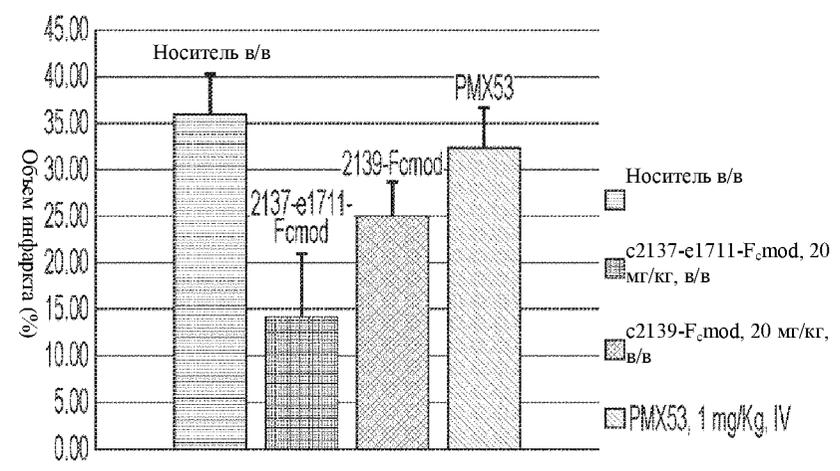
Фиг. 27В



Фиг. 27С

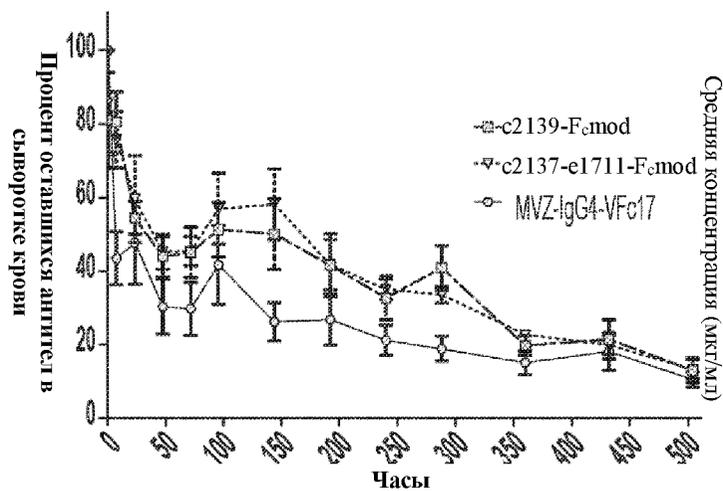


Фиг. 28А

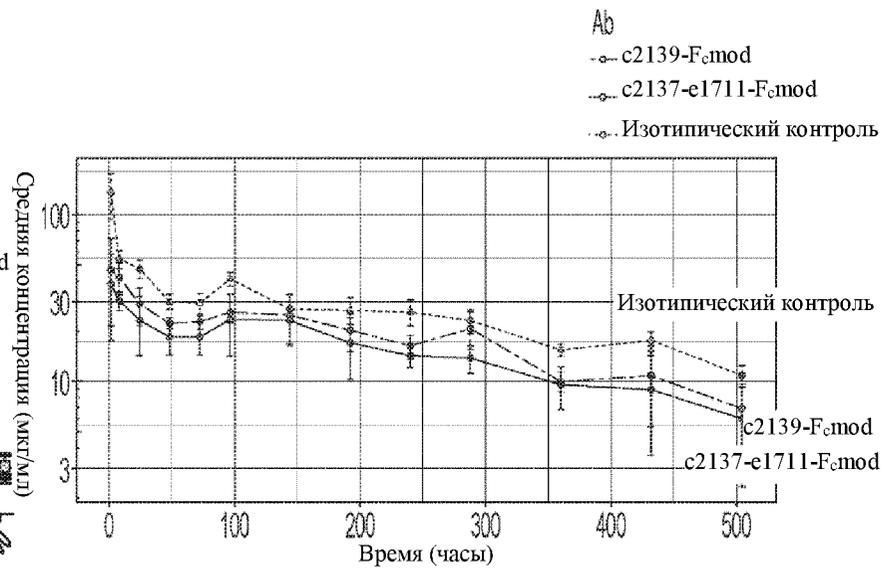


Фиг. 28В

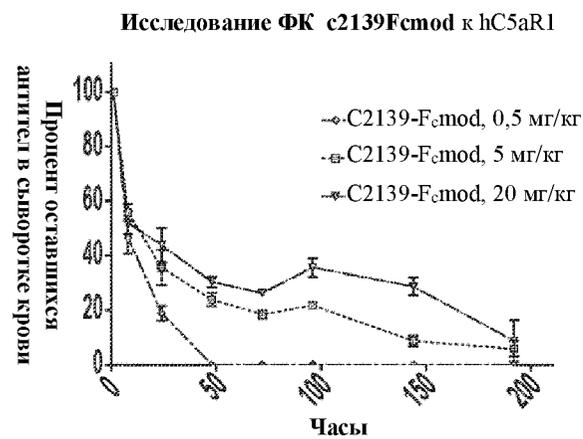
ФК исследование Tg32



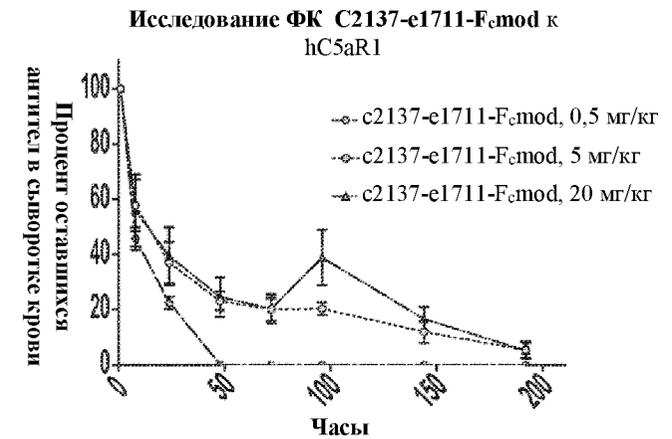
Фиг. 29А



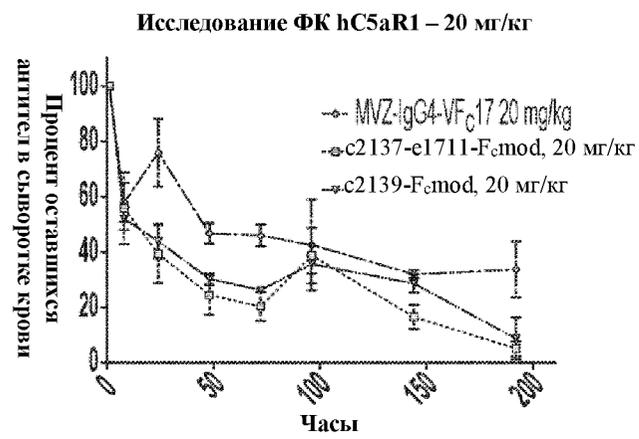
Фиг. 29В



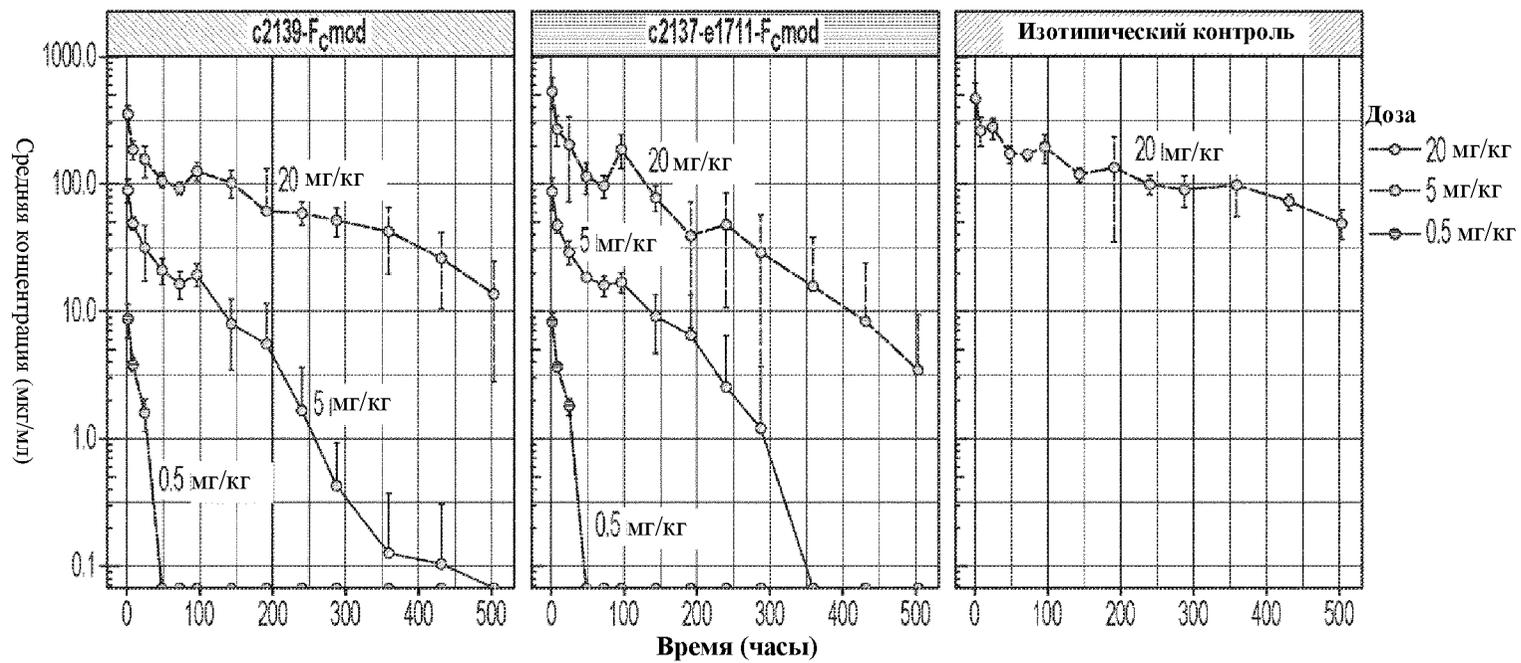
Фиг. 30А



Фиг. 30В



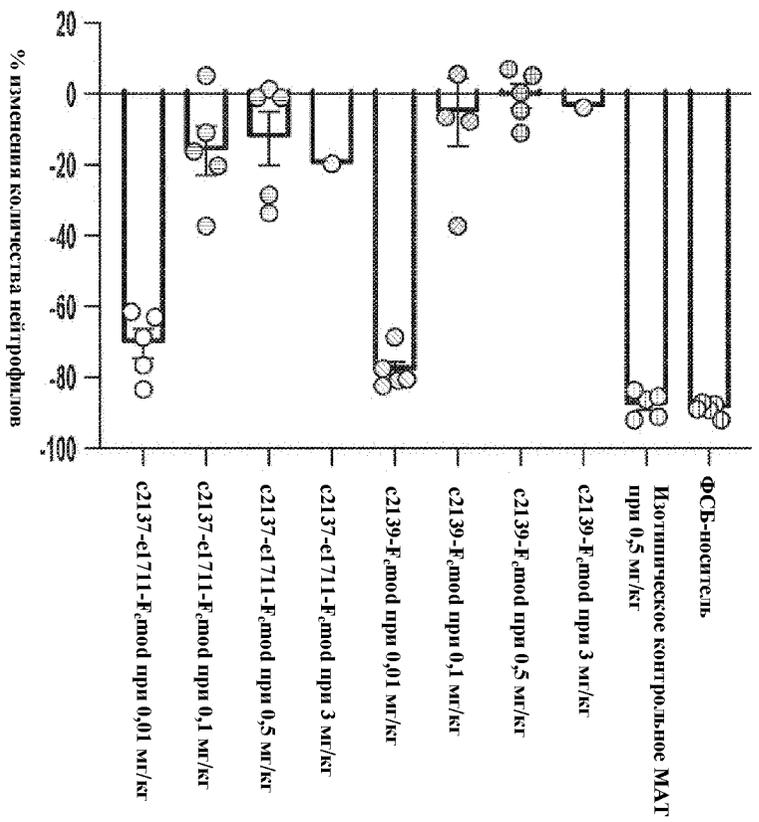
Фиг. 30С



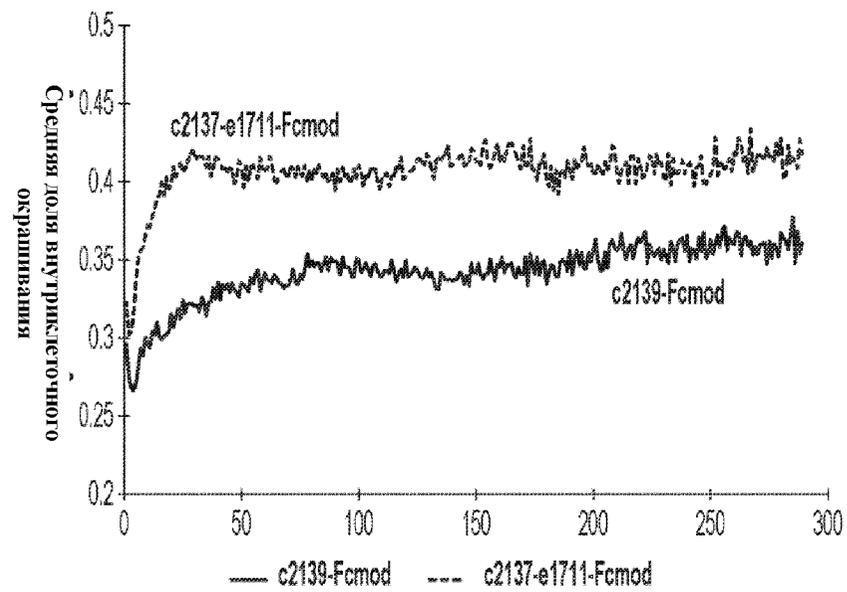
Фиг. 30D

Фиг. 30E

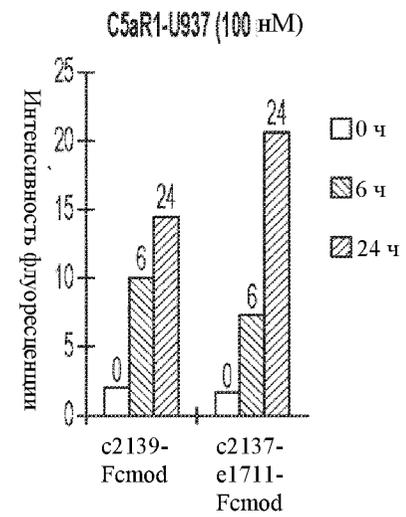
Фиг. 30F



Фиг. 31



Фиг. 32А



Фиг. 32В