

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201291161** (13) **A2**

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

(43) Дата публикации заявки
2013.04.30

(22) Дата подачи заявки
2011.05.04

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
C12N 5/0786 (2006.01)
C12N 1/15 (2006.01)
C12N 1/19 (2006.01)
C12N 5/02 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07H 21/04 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **СВЯЗЫВАЮЩИЕ CSF1R АНТИТЕЛА**

(31) **61/331,177**

(32) **2010.05.04**

(33) **US**

(86) **PCT/US2011/035231**

(87) **WO 2011/140249 2011.11.10**

(71) Заявитель:
**ФАЙВ ПРАЙМ ТЕРАПЬЮТИКС,
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
**Вонг Джастин, Васкес Максимиляно
(US)**

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

(57) Предлагаются антитела, связывающие CSF1R. Предлагаются также тяжелые и легкие цепи антител, способные формировать антитела, связывающие CSF1R. Предлагаются также полинуклеотиды, кодирующие антитела к CSF1R. Предлагаются также полинуклеотиды, кодирующие тяжелые и легкие цепи антител. Предлагаются способы лечения с использованием антител к CSF1R. К таким способам относятся (без ограничения) способы лечения ревматоидного артрита, разрежения кости и рассеянного склероза.

A2

201291161

201291161

A2

СВЯЗЫВАЮЩИЕ CSF1R АНТИТЕЛА

[001] Эта заявка претендует на приоритет предварительной патентной заявки США № 61/331177, поданной 4 мая 2010 года, которая включается в настоящее описание в полном объеме для любых целей.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[002] Предлагаются связывающие CSF1R антитела. Предлагаются тяжелые цепи и легкие цепи антител, которые могут образовывать антитела, связывающие CSF1R. Кроме того, предлагаются антитела, тяжелые цепи и легкие цепи, включающие один или несколько особых определяющих комплементарность участков (CDR). Предлагаются также полинуклеотиды, кодирующие антитела к CSF1R. Предлагаются способы лечения с использованием антител к CSF1R. К таким способам, среди прочего, относятся способы лечения ревматоидного артрита, остеопороза и рассеянного склероза.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[003] Рецептор колониестимулирующего фактора 1 (именуемый в настоящем описании "CSF1R"; также именуемый в области техники FMS, FIM2, C-FMS и CD115) - это однопроходный трансмембранный рецептор с N-терминальным внеклеточным доменом (ECD) и C-терминальным внутриклеточным доменом с активностью тирозинкиназы. Связывание лигандов CSF1 или лиганд интерлейкина 34 (именуемый в настоящем описании как IL34; Lin et al., *Science* 320: 807-11 (2008)) к CSF1R приводит к димеризации рецептора, повышению экспрессии протеин-тирозин киназы CSF1R, фосфорилированию остатков тирозина CSF1R и событиям сигнализации по ходу транскрипции. Как CSF1, так и IL34 стимулируют выживание моноцитов, пролиферацию и дифференцирование в макрофаги.

[004] Было обнаружено, что многие опухолевые клетки секретируют CSF1, который активирует клетки моноцитов/макрофагов при помощи CSF1R. Было показано, что уровень CSF1 в опухолях согласуется с уровнем опухолеассоциированных макрофагов (TAM) в опухоли. Было

обнаружено, что более высокие уровни TAM согласуются с более негативными прогнозами для пациентов. Кроме того, было выявлено, что CSF1 способствует росту опухоли и прогрессированию метастазов, например, в ксенотрансплантатах человеческого рака груди у мышей. См., например, Paulus et al., *Cancer Res.* 66: 4349-56 (2006). Кроме того, по-видимому, CSF1R играет определенную роль в остеолитическом разрежении кости при метастазах в кости, тогда как низкомолекулярный ингибитор активности рецепторной тирозинкиназы подавляет такое разрушение. См., например, Ohno et al., *Mol. Cancer Ther.* 5: 2634-43 (2006).

[005] Было также обнаружено, что CSF1 и его рецептор участвуют в различных воспалительных и аутоиммунных заболеваниях. См., например, Hamilton, *Nat. Rev.* 8: 533-44 (2008). Например, было обнаружено, что синовиальные эндотелиальные клетки из суставов, пораженных ревматоидным артритом, вырабатывают CSF1, что говорит о роли CSF1 и его рецептора в этой болезни. Блокирование активности CSF1R при помощи антитела дает позитивные клинические результаты на мышинных моделях артрита, включая снижение разрежения кости и хряща, а также уменьшение количества макрофагов. См., например, Kitaura et al., *J. Clin. Invest.* 115: 3418-3427 (2005).

[006] Зрелые дифференцированные клетки миелоидной линии, такие как макрофаги, микроглиальные клетки и остеокласты, способствуют патологии различных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, рассеянный склероз и разрежение кости. Дифференцированные клетки миелоидной линии образуются из посредников моноцитов периферической крови. Стимуляция CSF1R способствует развитию моноцитов из предшественников костного мозга, пролиферации и выживанию моноцитов, а также дифференцированию моноцитов периферической крови в дифференцированные клетки миелоидной линии, такие как макрофаги, микроглиальные клетки и остеокласты. Таким образом, стимуляция CSF1R способствует пролиферации, выживанию, активации и созреванию дифференцированных клеток миелоидной линии и установлению патологического состояния, стимуляция

CSF1R способствует способности дифференцированных клеток миелоидной линии выступать посредником в патологии болезни.

[007] Поэтому дополнительные антагонисты сигнализации CSF1R будут полезны в лечении различных связанных с CSF1R заболеваний, таких как рак, воспалительные состояния и аутоиммунные заболевания.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[008] Изобретатели по настоящему описанию изобрели новый набор антител, в том числе гуманизированных антител, направленных против внеклеточного домена CSF1R человека (CSF1R ECD). Была составлена библиотека фаговых отображений из селезенок мышей, которые были иммунизированы белком слияния CSF1R ECD-Fc человека. Было изолировано 1056 фаговых клонов, экспрессирующих Fab (связывающий антиген участок), связывающий CSF-1R ECD-Fc, путем пэннинга этой библиотеки. Когда 1056 Fab было экспрессировано в виде очищенного белка, было обнаружено, что 668 связывают CSF1R ECD. Из этих 668, связывающих Fab, только 121 Fab блокировали связывание CSF1 и/или IL34 с CSF1R. Было обнаружено, что только 33 из этих Fab блокируют связывание как CSF1, так и IL34 с CSF1R. После секвенирования 33 Fab представляли 19 уникальных наборов последовательностей. Было выбрано одиннадцать Fab с субнаномолярной аффинностью к CSF1R ECD человека для получения химерных антител для дальнейшего исследования. Исходя из способности связывания CSF1R у людей и макак-крабоедов, блокирования связывания CSF1 и IL34 с CSF1R, а также ингибирования индуцированного лигандами фосфорилирования CSF1R, для гуманизации было выбрано три химерных антитела, и было получено шестнадцать гуманизированных антител на основе этих трех химерных антител.

[009] Четырнадцать из шестнадцати гуманизированных антител сохранили субнаномолярное средство связывания с CSF1R ECD человека. См., например, таблицу 5. Эти гуманизированные антитела блокируют связывание обеих лигандов CSF1 и IL34 с CSF1R человека, а многие также блокируют связывание обеих CSF1 и IL34 с CSF1R макака-крабоеда. См., например, таблицу 4.

[010] Для разработки лекарственных средств желательно

иметь антитела, которые связывают антитела как человека, так и макака-крабоеда с подобной связывающей способностью. Три химерных антитела, отобранные для гуманизации, были выбраны, частично потому, что они имеют подобную связывающую способность к CSF1R ECD человека и макака-крабоеда. Тем не менее, большинство гуманизированных версий одного из химерных антител, 0302, теряли значительную связывающую способность к CSF1R ECD макака-крабоеда после гуманизации, хотя и сохраняли сильную связывающую способность к CSF1R ECD человека. См., например, таблицу 3. Гуманизированные версии 0301 и 0311 аналогичным образом сохраняли сильное связывание с CSF1R ECD как человека, так и макака-крабоеда, причем связывающая способность различалась у двух этих видов менее чем в 2 раза.

[011] Исходя из способности связывания с CSF1R, ингибирования лигандов и потенциальной иммуногенности, для дополнительных исследований было выбрано три гуманизированных антитела. Три гуманизированных антитела были получены из двух химерных антител, которые существенно не теряют способность связывания с CSF1R у макака-крабоедов после гуманизации. Эти три гуманизированных антитела ингибируют индуцируемое лигандами фосфорилирование CSF1R человека, а также блокируют индуцируемую лигандами пролиферацию и реакции выживания в первичных моноцитах человека. См., например, таблицы 6 и 7, а также фиг.10 и 11. Таким образом, эти антитела полезны для лечения заболеваний, включающих, например, индуцируемую лигандами пролиферацию и реакцию выживания в первичных моноцитах человека.

[012] Блокирование индуцируемых CSF1R реакций при помощи антитела к CSF1R должно ингибировать пролиферацию, выживание, созревание дифференцированных клеток миелоидной линии и ослаблять их способность опосредовать патологию болезни. Кроме того, блокирование индуцируемых CSF1R реакций при помощи антитела к CSF1R должно ингибировать дифференцирование посредников моноцитов периферической крови в дифференцированные клетки миелоидной линии, снижая тем самым количество опосредующих патологию дифференцированных клеток миелоидной

линии.

[013] Таким образом, описанные здесь гуманизированные антитела к CSF1R, могут использоваться для лечения хронических заболеваний с сохранившимися симптомами путем ингибирования способности дифференцированных клеток миелоидной линии опосредовать патологию заболевания. Гуманизированные антитела могут также использоваться для лечения хронических заболеваний, которые являются рецидивирующими и временно ослабевающими по своей природе, путем ингибирования развития новых опосредующих патологию клеток миелоидной линии, дифференцированных из моноцитов периферической крови во время фазы ослабления болезни, тем самым уменьшая количество и формирование новых клеток опосредующих патологию клеток.

[014] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается изолированное антитело, включающее тяжелую цепь и легкую цепь, при этом антитело связывается с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь и/или легкая цепь имеют следующую структуру.

[015] В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45. В некоторых вариантах осуществления изобретения легкая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52. В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, а легкая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

[016] В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелоцепочечные определяющие комплементарность участки HC CDR1, HC CDR2 и HC CDR3 включают набор последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 15, 16 и 17; (b) SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и (c) SEQ ID NO: 27, 28 и 29. В некоторых вариантах осуществления изобретения легкоцепочечные определяющие комплементарность участки LC CDR1, LC CDR2 и LC CDR3 включают набор последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 18, 19 и 20; (b) SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и (c) SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

[017] В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь включает HC CDR1, HC CDR2 и HC CDR3, при этом HC CDR1, HC CDR2 и HC CDR3 включают набор последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 15, 16 и 17; (b) SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и (c) SEQ ID NO: 27, 28 и 29; а легкая цепь включает LC CDR1, LC CDR2 и LC CDR3, при этом LC CDR1, LC CDR2 и LC CDR3 включают набор последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 18, 19 и 20; (b) SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и (c) SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

[018] В некоторых вариантах осуществления изобретения предусмотрено изолированное антитело, включающее тяжелую цепь и легкую цепь, причем антитело включает: (a) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 10; (b) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 12; (c) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере

меньшей мере на 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 44, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 52; (r) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 45, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 51; или (s) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 45, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 52.

[019] В некоторых вариантах осуществления изобретения предусмотрено изолированное антители, включающее тяжелую цепь и легкую цепь, причем антители включает: (a) тяжелую цепь, включающую тяжелоцепочечный (HC), определяющий комплементарность участок CDR1, имеющий последовательность SEQ ID NO: 15, HC CDR2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 16, и HC CDR3, имеющий последовательность SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, включающую легкоцепочечный (LC), определяющий комплементарность участок CDR1, имеющий последовательность SEQ ID NO: 18, LC CDR2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 19 и LC CDR3, имеющий последовательность SEQ ID NO: 20; (b) тяжелую цепь, включающую тяжелоцепочечный (HC), определяющий комплементарность участок CDR1, имеющий последовательность SEQ ID NO: 21, HC CDR2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 22 и HC CDR3, имеющий последовательность SEQ ID NO: 23, и легкую цепь, включающую легкоцепочечный (LC), определяющий комплементарность участок CDR1, имеющий последовательность SEQ ID NO: 24, LC CDR2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 25, и LC CDR3, имеющий последовательность SEQ ID NO: 26; или (c) тяжелую цепь, включающую тяжелоцепочечный (HC), определяющий комплементарность участок CDR1, имеющий последовательность SEQ

ID NO: 27, HC CDR2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 28, и HC CDR3, имеющий последовательность SEQ ID NO: 29, и легкую цепь, включающую легкоцепочечный (LC) определяющий комплементарность участок CDR1, имеющий последовательность SEQ ID NO: 30, LC CDR2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 31, и LC CDR3, имеющий последовательность SEQ ID NO: 32.

[020] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом антитело включает: (a) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 60; (b) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 61; или (c) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 58, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом антитело включает: (a) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 60; (b) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 61; или (c) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 58, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 65.

[021] В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является гуманизованное антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело выбирается из Fab, Fv, scFv, Fab' и (Fab')₂. В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело выбирается из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является IgG. В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является IgG4. В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом является IgG4, включающий мутацию S241P, по меньшей мере, в одной константной области тяжелой цепи IgG4.

[022] В некоторых вариантах осуществления изобретения

антитело связывается с CSF1R человека и/или связывается с CSF1R макака-крабода. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело блокирует лиганд, связывающий CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело блокирует связывание CSF1 и/или IL34 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело ингибирует индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело ингибирует индуцируемое CSF1 и/или IL34 фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело связывает CSF1R человека с афинностью (K_D) менее 1 нМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело ингибирует пролиферацию и/или реакции выживания моноцитов в присутствии CSF1 или IL34.

[023] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается фармацевтическая композиция, включающая антитело, связывающее CSF1R.

[024] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается изолированная нуклеиновая кислота, при этом изолированная нуклеиновая кислота включает полинуклеотидную последовательность, кодирующую описанную выше тяжелую цепь. В некоторых вариантах осуществления изобретения изолированная нуклеиновая кислота кодирует описанную выше легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления изобретения изолированная нуклеиновая кислота кодирует описанную выше тяжелую цепь и описанную выше легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается композиция, которая включает первую нуклеиновую кислоту, включающую полинуклеотидную последовательность, кодирующую описанную выше тяжелую цепь, и вторую нуклеиновую кислоту, включающую полинуклеотидную последовательность, кодирующую описанную выше легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается клетка-хозяин, включающая нуклеиновую кислоту или описанная выше композиция. В некоторых вариантах осуществления изобретения клеткой-хозяином является эукариотическая клетка-хозяин. В некоторых вариантах осуществления изобретения клеткой-хозяином

является клетка-хозяин млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетка-хозяин выберется из клетки яичника китайского хомячка (CHO), клетки 293, клетки NSO и клетки PER.C6. В некоторых вариантах осуществления изобретения клеткой-хозяином является клетка 293-6E или клетка DG44.

[025] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются способы лечения болезни, включающие введение пациенту фармацевтической композиции, включающей антитело, связывающее CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается способ лечения рассеянного склероза, включающий введение пациенту фармацевтической композиции, включающей антитело, связывающее CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается способ лечения ревматоидного артрита, включающий введение пациенту лекарственного состава, включающего антитело, связывающее CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается способ лечения остеолитического разрежения кости, включающий введение пациенту фармацевтической композиции, включающей антитело, связывающее CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения остеолитическим разрежением кости может быть остеопороз, индуцированное метастазой остеолитическое разрежение кости и индуцированное ревматоидным артритом разрежение кости. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается способ лечения рака, включающий введение пациенту фармацевтической композиции, включающей антитело, связывающее CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения раком может быть рак груди, рак простаты, эндометриальный рак, рак мочевого пузыря, рак почек, рак пищевода, плоскоклеточная карцинома, увеальная меланома, фолликулярная лимфома, почечно-клеточный рак, рак шейки матки, рак яичников, рак легких, колоректальный рак, рак мозга, рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, рак печени, лейкемия, лимфома, болезнь Ходжкина, множественная миелома, меланома, астроцитомы, рак желудка и аденокарцинома легких.

[026] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается способ лечения воспалительных состояний,

включающий введение пациенту фармацевтической композиции, включающей антитело, связывающее CSF1R.

[027] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются антитела, связывающие CSF1R, и композиции, которые включают антитела, связывающие CSF1R, для их использования в способах лечения людей и животных. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются антитела, связывающие CSF1R, и композиции, которые включают антитела, связывающие CSF1R, для их использования в способах лечения ревматоидного артрита у людей и животных. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются антитела, связывающие CSF1R, и композиции, которые включают антитела, связывающие CSF1R, для их использования в способах лечения рассеянного склероза у людей и животных. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются антитела, связывающие CSF1R, и композиции, которые включают антитела, связывающие CSF1R, для их использования в способах лечения рака у людей и животных. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются антитела, связывающие CSF1R, и композиции, которые включают антитела, связывающие CSF1R, для их использования в способах лечения воспалительных состояний у людей и животных.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

[028] На фиг.1 показано выравнивание гуманизированных переменных областей тяжелых цепей для каждого гуманизированного антитела Ab1-Ab16, рассматриваемого в примере 4. Обведенными в рамку остатками являются аминокислоты в последовательности акцепторов человека, которые вернулись назад в соответствующий мышиный остаток.

[029] На фиг.2 показано выравнивание гуманизированных переменных областей легких цепей для каждого гуманизированного антитела Ab1-Ab16, рассматриваемого в примере 4. Обведенными в рамку остатками являются аминокислоты в последовательности акцепторов человека, которые вернулись назад в соответствующий мышиный остаток.

[030] На фиг.3 показаны кривые связывания для определенных гуманизированных антител, связывающих CSF1R ECD человека, как

описано в примере 5. На фиг.3А показаны кривые связывания для родительских химерных антител (сAb) 0301 и гуманизированных антител (huAb) 0301.1, 0301.2, 0302.3, 0301.4, 0301.5 и 0301.6 (h0301-L0H0, h0301-L0H1, h0301-L0H2, h0301-L1H0, h0301-L1H1 и h0301-L1H2 соответственно). На фиг.3В показаны кривые связывания для родительских сAb 0302 и гуманизированных антител (huAb) 0302.1, 0302.2, 0302.3, 0302.4, 0302.5 и 0302.6 (h0302-L0H1, h0302-L1H1, h0302-L2H1, h0302-L0H2, h0302-L1H2 и h0302-L2H2 соответственно). На фиг.3С показаны кривые связывания для родительских сAb 0311 и гуманизированных антител (huAb) 0311.1, 0311.2, 0311.3 и 0311.4 (h0311-L0H1, h0311-L1H1, h0311-L0H2 и h0311-L1H2 соответственно).

[031] На фиг.4 показаны кривые связывания для определенных гуманизированных антител, связывающих CSF1R ECD макака-крабоеда, как описано в примере 5. На фиг.4А показаны кривые связывания для родительских сAb 0301 и гуманизированных антител (huAb) 0301.1, 0301.2, 0302.3, 0301.4, 0301.5 и 0301.6 (h0301-L0H0, h0301-L0H1, h0301-L0H2, h0301-L1H0, h0301-L1H1 и h0301-L1H2 соответственно). На фиг.4В показаны кривые связывания для родительских сAb 0302 и гуманизированных антител (huAb) 0302.1, 0302.2, 0302.3, 0302.4, 0302.5 и 0302.6 (h0302-L0H1, h0302-L1H1, h0302-L2H1, h0302-L0H2, h0302-L1H2 и h0302-L2H2 соответственно). На фиг.4С показаны кривые связывания для родительских сAb 0311 и гуманизированных антител (huAb) 0311.1, 0311.2, 0311.3 и 0311.4 (h0311-L0H1, h0311-L1H1, h0311-L0H2 и h0311-L1H2 соответственно).

[032] На фиг.5 показаны кривые связывания для определенных гуманизированных антител, связывающих CSF1R ECD мыши, как описано в примере 5. На фиг.5А показаны кривые связывания для родительских сAb 0301 и гуманизированных антител (huAb) 0301.1, 0301.2, 0302.3, 0301.4, 0301.5 и 0301.6 (h0301-L0H0, h0301-L0H1, h0301-L0H2, h0301-L1H0, h0301-L1H1 и h0301-L1H2 соответственно). На фиг.5В показаны кривые связывания для родительских сAb 0302 и гуманизированных антител (huAb) 0302.1, 0302.2, 0302.3, 0302.4, 0302.5 и 0302.6 (h0302-L0H1, h0302-L1H1, h0302-L2H1, h0302-L0H2, h0302-L1H2 и h0302-L2H2 соответственно).

соответственно). На фиг.5С показаны кривые связывания для родительских сAb 0311 и гуманизированных антител (huAb) 0311.1, 0311.2, 0311.3 и 0311.4 (h0311-L0H1, h0311-L1H1, h0311-L0H2 и h0311-L1H2 соответственно).

[033] На фиг.6 показано ингибирование индуцированной CSF1 пролиферации CSF1R определенными гуманизированными антителами, как описано в примере 6. На фиг.6А показаны кривые блокирования родительских сAb 0301 и гуманизированных антител (huAb) 0301.1, 0301.2, 0302.3, 0301.4, 0301.5 и 0301.6 (h0301-L0H0, h0301-L0H1, h0301-L0H2, h0301-L1H0, h0301-L1H1 и h0301-L1H2 соответственно). На фиг.6В показаны кривые блокирования родительских сAb 0302 и гуманизированных антител (huAb) 0302.1, 0302.2, 0302.3, 0302.4, 0302.5 и 0302.6 (h0302-L0H1, h0302-L1H1, h0302-L2H1, h0302-L0H2, h0302-L1H2 и h0302-L2H2 соответственно). На фиг.6С показаны кривые блокирования родительских сAb 0311 и гуманизированных антител (huAb) 0311.1, 0311.2, 0311.3 и 0311.4 (h0311-L0H1, h0311-L1H1, h0311-L0H2 и h0311-L1H2 соответственно).

[034] На фиг.7 показано ингибирование индуцированной IL34 пролиферации CSF1R определенными гуманизированными антителами, как описано в примере 6. На фиг.7А показаны кривые блокирования родительских сAb 0301 и гуманизированных антител (huAb) 0301.1, 0301.2, 0302.3, 0301.4, 0301.5 и 0301.6 (h0301-L0H0, h0301-L0H1, h0301-L0H2, h0301-L1H0, h0301-L1H1 и h0301-L1H2 соответственно). На фиг.7В показаны кривые блокирования родительских сAb 0302 и гуманизированных антител (huAb) 0302.1, 0302.2, 0302.3, 0302.4, 0302.5 и 0302.6 (h0302-L0H1, h0302-L1H1, h0302-L2H1, h0302-L0H2, h0302-L1H2 и h0302-L2H2 соответственно). На фиг.7С показаны кривые блокирования родительских сAb 0311 и гуманизированных антител (huAb) 0311.1, 0311.2, 0311.3 и 0311.4 (h0311-L0H1, h0311-L1H1, h0311-L0H2 и h0311-L1H2 соответственно).

[035] На фиг.8 показано блокирование CSF1 человека, связывающего CSF1R ECD макака-крабоеда, определенными гуманизированными антителами, как описано в примере 7. На фиг.8А показаны кривые блокирования родительских сAb 0301 и

гуманизированных антител (huAb) 0301.1, 0301.2, 0302.3, 0301.4, 0301.5 и 0301.6 (h0301-L0H0, h0301-L0H1, h0301-L0H2, h0301-L1H0, h0301-L1H1 и h0301-L1H2 соответственно). На фиг.8В показаны кривые блокирования родительских сAb 0302 и гуманизированных антител (huAb) 0302.1, 0302.2, 0302.3, 0302.4, 0302.5 и 0302.6 (h0302-L0H1, h0302-L1H1, h0302-L2H1, h0302-L0H2, h0302-L1H2 и h0302-L2H2 соответственно). На фиг.8С показаны кривые блокирования родительских сAb 0311 и гуманизированных антител (huAb) 0311.1, 0311.2, 0311.3 и 0311.4 (h0311-L0H1, h0311-L1H1, h0311-L0H2 и h0311-L1H2 соответственно).

[036] На фиг.9 показано блокирование IL34 человека, связывающего CSF1R ECD макака-крабоеда, определенными гуманизированными антителами, как описано в примере 7. На фиг.9А показаны кривые блокирования родительских сAb 0301 и гуманизированных антител (huAb) 0301.1, 0301.2, 0302.3, 0301.4, 0301.5 и 0301.6 (h0301-L0H0, h0301-L0H1, h0301-L0H2, h0301-L1H0, h0301-L1H1 и h0301-L1H2 соответственно). На фиг.9В показаны кривые блокирования родительских сAb 0302 и гуманизированных антител (huAb) 0302.1, 0302.2, 0302.3, 0302.4, 0302.5 и 0302.6 (h0302-L0H1, h0302-L1H1, h0302-L2H1, h0302-L0H2, h0302-L1H2 и h0302-L2H2 соответственно). На фиг.9С показаны кривые блокирования родительских сAb 0311 и гуманизированных антител (huAb) 0311.1, 0311.2, 0311.3 и 0311.4 (h0311-L0H1, h0311-L1H1, h0311-L0H2 и h0311-L1H2 соответственно).

[037] На фиг.10 показано блокирование индуцированного CSF1-(А) и IL34-(В) фосфорилирования CSF1R в клетках CHO, экспрессирующих CSF1R человека, гуманизированными антителами 0301-L0H0, 0301-L1H0 и 0311-L0H1, как описано в примере 9.

[038] На фиг.11 показано блокирование индуцированной CSF1-(А) и IL34-(В) пролиферации/реакции выживания моноцитов гуманизированными антителами 0301-L0H0, 0301-L1H0 и 0311-L0H1, как описано в примере 10.

[039] На фиг.12А-С показано, что гуманизированные антитела 0301-L0H0, 0301-L1H0 и 0311-L0H1 не стимулируют первичную

пролиферацию или выживание моноцитов при использовании моноцитов от трех различных доноров, как описано в примере 11.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[040] Предлагаются способы лечения болезней, включающие введение новых антител к CSF1R. Все антитела обладают связывающей способностью к CSF1R ECD человека менее 2 нМ, и все, кроме двух гуманизированных антител, обладают субнаномолярной связывающей способностью к CSF1R ECD человека. Кроме того, новые антитела блокирует связывание как CSF1, так и IL34 с CSF1R человека и ингибируют индуцируемое лигандами фосфорилирование CSF1R человека. Многие из этих новых антител также блокируют связывание CSF1 и IL34 рецептора CSF1R макака-крабоеда, что облегчает проведение экспериментов *in vivo* для поддержки разработки лекарственных средств на основе антител к CSF1R. Таким образом, эти новые антитела хорошо подходят для терапевтического применения для лечения болезней человека, в том числе (без ограничения) рака, аутоиммунных заболеваний и воспалительных состояний.

[041] Используемые в настоящем описании заголовки разделов предназначены только для организационных целей, и их не следует рассматривать в качестве ограничения описанного предмета изобретения.

Определения

[042] Если не приведено иного определения, научно-технические термины, используемые в связи с настоящим изобретением, имеют значения, которые обычно понимаются под этими терминами специалистами в данной области. Кроме того, если контекстом не требуется иного, термины в единственном числе включают множественное число, а термины во множественном числе включают единственное число.

[043] Примеры методов, используемых в связи с рекомбинантной ДНК, синтезом олигонуклеотидов, культурой тканей и трансформацией (например, электропорация, липофекция), ферментативными реакциями и методами очистки, известны специалистам в данной области. Многие такие методы и процедуры описаны, например, в Sambrook et al. *Molecular Cloning: A*

Laboratory Manual (2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)), и в прочих источниках. Кроме того, примеры методов химического синтеза, химического анализа, производства, приготовления и введения лекарственных средств, а также лечения пациентов также известны из уровня техники.

[044] В данной заявке использование "или" означает "и/или", если не указано иного. В контексте нескольких зависимых пунктов формулы изобретения использование "или" означает обратную ссылку на несколько предыдущих независимых или зависимых пунктов формулы только в качестве альтернативы. Кроме того, такие термины, как "элемент" или "компонент" охватывают как элементы и компоненты, включающие одну единицу, так и элементы и компоненты, включающие больше одной подединицы, если прямо не указано иного.

[045] При использовании в соответствии с настоящим описанием изобретения следующие термины, если не указано иного, имеют следующее значение:

[046] Термины "молекула нуклеиновой кислоты" и "полинуклеотид" могут использоваться взаимозаменяемо и обозначать полимер нуклеотидов. Такие полимеры нуклеотидов могут включать натуральные и/или ненатуральные нуклеотиды и содержать (без ограничения) ДНК, РНК и ПНК. "Последовательность нуклеиновых кислот" обозначает линейную последовательность нуклеотидов, которая включает молекулу нуклеиновых кислот или полинуклеотид.

[047] Термины "полипептид" и "белок/протеин" используются взаимозаменяемо для обозначения полимера аминокислотных остатков и не ограничены минимальной длиной. Такие полимеры аминокислотных остатков могут включать натуральные и ненатуральные аминокислотные остатки и включают (без ограничения) пептиды, олигопептиды, димеры, тримеры и мультимеры аминокислотных остатков. Это определение охватывает как непроцессированные белки, так и их фрагменты. Эти термины также включают модификации полипептида после экспрессии, например, гликозилирование, сиамирование, ацетилирование,

фосфорилирование и т.п. Кроме того, для целей настоящего изобретения "полипептид" обозначает белок, включающий модификации, такие как делеции, добавления и замещения (обычные консервативные по своему характеру), нативной последовательности, пока белок сохраняет желаемую активность. Эти модификации могут быть намеренными, например, путем сайт-направленного мутагенеза, либо же может быть случайным, например, путем мутаций хозяев, вырабатывающих белки или ошибки за счет ПЦР-амплификации.

[048] Термин "CSF1R" обозначает в настоящем описании непротессированный CSF1R, который включает N-терминальный ECD, трансмембранный домен и внутриклеточный домен тирозинкиназы, с N-терминальной лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления изобретения CSF1R - это CSF1R человека, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

[049] Термин "внеклеточный домен CSF1R" ("CSF1R ECD"), используемый в настоящем описании, обозначает полипептид CSF1R, в котором отсутствует внутриклеточный и трансмембранный домен. CSF1R ECD включает непротессированный CSF1R ECD и фрагменты CSF1R ECD, которые могут связывать CSF1R и/или IL34. Непротессированный CSF1R ECD человека определяется в настоящем описании как включающий либо аминокислоты 1-512 (т.е., включающие лидерную последовательность), либо аминокислоты 20-512 (т.е., не включающие лидерной последовательности) SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления изобретения фрагмент CSF1R ECD человека включает аминокислоты 20-506 SEQ ID NO: 2 (см. SEQ ID NO:5). В некоторых вариантах осуществления изобретения фрагмент CSF1R человека заканчивается аминокислотой 507, 508, 509, 510 или 511. В некоторых вариантах осуществления изобретения CSF1R ECD макака-крабоеда включает последовательность SEQ ID NO: 7 (с лидерной последовательностью) или аминокислоты 20-506 SEQ ID NO: 7 (без лидерной последовательности).

[050] Используемый в настоящем описании термин "антитело" обозначает молекулу, включающую, по меньшей мере, определяющий

комплементарность участков (CDR) 1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и, по меньшей мере, CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, причем эта молекула способна связывать антиген. Термин "антитело" включает (без ограничений) фрагменты, способные связывать антиген, такие как Fv, одноцепочечное Fv (scFv), Fab, Fab' и (Fab')₂. Термин "антитело" включает (без ограничений) химерные антитела, гуманизированные антитела и антитела различных видов, таких как мышь, человек, макак-крабоед и т.д.

[051] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело включает переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело включает, по меньшей мере, одну тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи, и, по меньшей мере, часть константной области тяжелой цепи, и, по меньшей мере, одну легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи и, по меньшей мере, часть константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело включает две тяжелых цепи, при этом каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи и, по меньшей мере, часть константной области тяжелой цепи, и две легкие цепи, при этом каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи и, по меньшей мере, часть константной области легкой цепи. При использовании в настоящем описании одноцепочечное Fv (scFv) или любое другое антитело, включающее, например, одну полипептидную цепь, содержащую все шесть CDR (три тяжелоцепочечных CDR и три легкоцепочечных CDR), считается имеющим тяжелую цепь и легкую цепь. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь - это участок антитела, содержащий три тяжелоцепочечных CDR, а легкая цепь - это участок антитела, содержащий три легкоцепочечных CDR.

[052] Используемый в настоящем описании термин "переменная область тяжелой цепи" обозначает область, включающую тяжелоцепочечный CDR1, каркас (FR) 2, CDR2, FR3 и CDR3. В некоторых вариантах осуществления изобретения переменный участок тяжелой цепи также включает, по меньшей

мере, часть FR1 и/или, по меньшей мере, FR4. В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелоцепочечный CDR1 соответствует остаткам по Кабату 26-35; тяжелоцепочечный CDR2 соответствует остаткам по Кабату 50-65; и тяжелоцепочечный CDR3 соответствует остаткам по Кабату 95-102. См., например, Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987 и 1991, NIH, Bethesda, Md.); и фиг.1. В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелоцепочечный CDR1 соответствует остаткам по Кабату 31-35; тяжелоцепочечный CDR2 соответствует остаткам по Кабату 50-65; а тяжелоцепочечный CDR3 соответствует остаткам по Кабату 95-102. См. там же.

[053] Используемый в настоящем описании термин "константная область тяжелой цепи" обозначает область, область, включающую, по меньшей мере, три константных области тяжелой цепи C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Неограничивающими примерами константных областей тяжелых цепей являются γ , δ и α . Неограничивающими примерами константных областей тяжелых цепей также являются ϵ и μ . Каждая константная область тяжелой цепи соответствует изотопу антитела. Например, антитело, включающее константную область γ , является антителом IgG; антитело, включающее константную область δ , является антителом IgD, а антитело, включающее константную область α , является антителом IgA. Кроме того, антитело, включающее константную область μ , является антителом IgM, а антитело, включающее константную область ϵ , является антителом IgE. Определенные изотопы могут дополнительно подразделяться на подклассы. Например, к антителам IgG относятся (без ограничения) антитела IgG1 (включающее константную область γ_1), IgG2 (включающее константную область γ_2), IgG3 (включающее константную область γ_3) и IgG4 (включающее константную область γ_4); к антителам IgA относятся (без ограничения) антитела IgA1 (включающее константную область α_1) и IgA2 (включающее константную область α_2); а к антителам IgM относятся (без ограничения) IgM1 и IgM2.

[054] В некоторых вариантах осуществления изобретения константная область тяжелой цепи включает одну или несколько мутаций (или замещений), добавлений или делеций, которые

придают желаемые характеристики антителу. Неограничивающими примерами мутаций являются мутация S241P в шарнирной области IgG4 (между константными доменами C_H1 и C_H2), которая изменяет мотив IgG4 с CPSCP на CPPCP, что подобно соответствующему мотиву в IgG1. Эта мутация в некоторых вариантах осуществления изобретения дает в результате более стабильное антитело IgG4. См., например, Angal et al., *Mol. Immunol.* 30: 105-108 (1993); Bloom et al., *Prot. Sci.* 6: 407-415 (1997); Schuurman et al., *Mol. Immunol.* 38: 1-8 (2001).

[055] Используемый в настоящем описании термин "тяжелая цепь" обозначает полипептид, включающий, по меньшей мере, переменную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь включает, по меньшей мере, часть константной области тяжелой цепи. Используемый в настоящем описании термин "непроцессированная тяжелая цепь" обозначает полипептид, содержащий переменную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

[056] Используемый в настоящем описании термин "переменная область легкой цепи" обозначает область, включающую легкоцепочечный CDR1, каркас (FR) 2, CDR2, FR3 и CDR3. В некоторых вариантах осуществления изобретения переменную область легкой цепи также включает FR1 и/или FR4. В некоторых вариантах осуществления изобретения легкоцепочечный CDR1 соответствует остаткам по Кабату 24-34; легкоцепочечный CDR2 соответствует остаткам по Кабату 50-56; а легкоцепочечный CDR3 соответствует остаткам по Кабату 89-97. См., например, *Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest* (1987 и 1991, NIH, Bethesda, Md.); и фиг.1.

[057] Используемый в настоящем описании термин "константная область легкой цепи" обозначает область, включающая константный домен легкой цепи, C_L. Неограничивающими примерами константных областей легкой цепи являются λ и κ.

[058] Используемый в настоящем описании термин "легкая цепь" обозначает полипептид, включающий, по меньшей мере,

вариабельную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления изобретения легкая цепь включает, по меньшей мере, часть константной области легкой цепи. Используемый в настоящем описании термин "непроцессированная легкая цепь" обозначает полипептид, содержащий вариабельную область легкой цепи и константную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

[059] Используемый в настоящем описании термин "химерное антитело" обозначает антитело, включающее, по меньшей мере, одну вариабельную область от первого вида (например, мыши, крысы, макака-крабоеда и т.п.), и, по меньшей мере, одну константную область от второго вида (например, человека, макака-крабоеда и т.п.). В некоторых вариантах осуществления изобретения а химерное антитело включает, по меньшей мере, одну мышиную вариабельную область и, по меньшей мере, одну человеческую константную область. В некоторых вариантах осуществления изобретения химерное антитело включает, по меньшей мере, одну вариабельную область макака-крабоеда и, по меньшей мере, одну человеческую константную область. В некоторых вариантах осуществления изобретения все вариабельные области химерного антитела получены от первого вида, а все константные области химерного антитела - от другого вида.

[060] Используемый в настоящем описании термин "гуманизированное антитело" обозначает антитело, в котором, по меньшей мере, одна аминокислота в каркасном участке нечеловеческой вариабельной области заменена соответствующей аминокислотой из человеческой вариабельной области. В некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизированное антитело включает, по меньшей мере, одну человеческую константную область или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизированным антителом является Fab, scFv, (Fab')₂ и т.п.

[061] Используемый в настоящем описании термин "антитело с трансплантированным CDR" обозначает гуманизированное антитело, в котором определяющие комплементарность участки (CDR) первого

(нечеловеческого) вида трансплантируются в каркасные участки (FR) второго (человеческого) вида.

[062] Используемый в настоящем описании термин "человеческое антитело" обозначает антитела, вырабатываемые в человеке, антитела, вырабатываемые в животных, имеющих человеческие гены иммуноглобулинов, таких как XenoMouse®, а также антитела, выбранные с использованием методов *in vitro*, таких как фаговое отображение, при этом спектр антител основан на человеческих последовательностях иммуноглобулинов.

[063] Используемый в настоящем описании термин "лидерная последовательность" обозначает последовательность аминокислотных остатков, расположенных на N-конце полипептида, которая облегчает секрецию полипептида из клеток млекопитающих. Лидерная последовательность может быть отщеплена после экспорта полипептида от клетки млекопитающего, образуя зрелый белок. Лидерные последовательности могут быть естественными или искусственными, могут быть гетерологичными или гомологичными к белку, к которому они присоединены. К примерам лидерных последовательностей относятся (без ограничения) лидерные последовательности антител, такие как, например, аминокислотные последовательности SEQ ID NO.: 3 и 4, которые соответствуют человеческой легкоцепочечной и тяжелоцепочечной лидерной последовательности соответственно. К неограничивающим примерам лидерных последовательностей также относятся лидерные последовательности от гетерологичных белков. В некоторых вариантах осуществления изобретения в антителе нет лидерной последовательности. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело включает, по меньшей мере, одну лидерную последовательность, которую можно выбрать из нативных лидерных последовательностей антител и гетерологических лидерных последовательностей.

[064] Термин "вектор" используется для описания полинуклеотида, который при помощи генной инженерии может содержать клонированный полинуклеотид или полинуклеотиды, которые могут быть транслированы в клетку-хозяина. Вектор может включать один и больше следующих элементов: происхождение

репликации, одну или несколько регулирующих последовательностей (таких как, например, промоторы и/или энхансеры), которые регулируют экспрессию соответствующего полипептида, и/или один или несколько выбранных маркерных генов (таких как, например, гены с устойчивостью к антибиотикам и гены, которые могут использоваться в колориметрических количественных анализах, например, β -галактозидаза). Термин "экспрессионный вектор" обозначает вектор, который используется для экспрессии соответствующего полипептида в клетке-хозяине.

[065] Термин "клетка-хозяин" обозначает клетку, которая может быть или была реципиентом вектора или изолированного полинуклеотида. Клетками-хозяевами могут быть прокариотические клетки или эукариотические клетки. Примерами эукариотических клеток являются клетки млекопитающих, такие как клетки приматов или неprimатов; клетки грибов, такие как дрожжи; растительные клетки, и клетки насекомых. Неограничивающими примерами клеток млекопитающих являются (без ограничения) клетки NSO, клетки PER.C6® (Crucell) и клетки 293 и клетки CHO, а также их производные, такие как клетки 293-6E и DG44 соответственно.

[066] Используемый в настоящем описании термин "изолированный" обозначает молекулу, которая была изолирована, по меньшей мере, от некоторых компонентов, с которыми она обычно встречается в природе. Например, полипептид называется "изолированным", когда он отделяется, по меньшей мере, от некоторых компонентов клетки, в которой он был выработан. Если полипептид секретируется клеткой после экспрессии, физическое отделение насадочной жидкости, содержащей полипептид, от выработавшей ее клетки считается "изолирующим" полипептид. Аналогичным образом, полинуклеотид считается "изолированным", когда он не является частью большего полинуклеотида (такого как, например, геномного ДНК или митохондриального ДНК в случае полинуклеотида ДНК), в котором его обычно находят в природе, или отделяется, по меньшей мере, от некоторых компонентов клетки, в которой он был выработан, например, в случае полинуклеотида РНК. Таким образом, полинуклеотид ДНК, содержащийся в векторе внутри клетки-хозяина, может называться

“изолированным”, если такой полинуклеотид не находят в таком векторе в природе.

[067] Термины “субъект” и “пациент” используются в настоящем описании взаимозаменяемо для обозначения человека. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются также способы лечения других млекопитающих, в том числе (без ограничения) грызунов, обезьяноподобных, кошачьих, собачьих, лошадиных крупного рогатого скота, свиноподобных, овечьих, козлиных, лабораторных млекопитающих, сельскохозяйственных млекопитающих, спортивных млекопитающих и домашних млекопитающих.

[068] Термин “ревматоидный артрит” (“РА”) обозначает хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся, главным образом, воспалением выстилки (синовиальной оболочки) суставов, которое может приводить к повреждению суставов, в результате чего возникает хроническая боль, потеря функции и инвалидность. Поскольку РА может оказывать негативное воздействие на множество органов тела, в том числе кожу, легкие и глаза, он называется системным заболеванием.

[069] Термин “рассеянный склероз” (“РС”) обозначает хроническое, аутоиммунное, демиелинизирующее заболевание ЦНС, при котором тело вырабатывает антитела и лейкоциты против клеток, вырабатывающих миелиновую оболочку. “Демиелинизация” возникает, когда миелиновая оболочка становится воспаленной, поврежденной и отсоединяется от нервного волокна.

[070] Термин “рак” обозначает пролиферативное поражение, связанное с неконтролируемой пролиферацией клеток, неограниченным ростом клеток и сниженной смертью клеток (апоптозом). К раку относятся (без ограничения) следующие виды: рак груди, рак простаты, рак легких, рак почек, рак щитовидной железы, рак пищевода, меланома, фолликулярные лимфомы, увеальная меланома, рак мозга, рак головы и шеи, аденокарцинома легких, в том числе (без ограничения) колоректальный рак, сердечные опухоли, рак поджелудочной железы, ретинобластома, глиобластома, желудочно-кишечный рак, рак яичек, рак желудка, нейробластома, миксома, миома, лимфома, эндотелиома,

остеобластома, остеокластома, остеосаркома, хондросаркома, аденома, саркома Капоши, карцинома яичников, лейкемия (включая острые виды лейкемии (например, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоцитарный лейкоз, в том числе миелобластный, промиелоцитарный, миеломоноцитарный, моноцитарный и эритролейкоз)) и хронические виды лейкемии (например, хроническая миелоцитарная (гранулоцитарная) лейкемия и хронический лимфоцитарный лейкоз), миелодиспластический синдром, болезнь Вакеза-Ослера, лимфомы (например, болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома), множественная миелома, макроглобулинемия Вальденстрема, болезни тяжелых цепей и солидные опухоли, в том числе (без ограничения) саркомы и карциномы, такие как фибросаркома, микросаркома, липосаркома, остеобластическая саркома, хордома, ангиосаркома, эндотелиальная саркома, лимфангиосаркома, лимфангиоэндотелиосаркома, синовиома, мезотелиома, саркома Юинга, лейомиосаркома, рабдомиосаркома, сквамозная карцинома, базальноклеточная карцинома, аденокарцинома, карцинома потовых желез, карцинома сальной железы, папиллярная карцинома, папиллярная аденокарцинома, цистаденокарцинома, медуллярный рак, бронхогенный рак, почечно-клеточный рак, гепатома, карцинома желчного протока, хориокарцинома, семинома, эмбриональный рак, нефробластома, рак шейки матки, эндометриальный рак, мелкоклеточная карцинома легкого, карцинома мочевого пузыря, эпителиальная карцинома, глиома, астроцитомы, медуллобластома, краниофарингиома, эпендимомы, пинеалома, гемангиобластома, нейрома слухового нерва, олигодендроглиома и менингиома. Термины "метастаз" и "раковый метастаз" используются в настоящем описании взаимозаменяемо для обозначения способности раковой клетки распространяться в другие ткани. Например, "метастаз в кость" обозначает способность определенных типов рака, например, (без ограничения) рака груди, рака простаты, рака легких, рака почки, рака щитовидной железы и меланомы, метастазировать в кость.

[071] Термин "остеолитические поражения" используется в

настоящем описании для обозначения любого состояния, вызванного увеличением активности остеокластов, которые являются клетками, отвечающими за резорбцию кости. Термины "остеолиз" и "остеолитическое разрежение кости" могут использоваться взаимозаменяемо для обозначения опосредованной остеокластами резорбции кости или разрежения кости, связанных с остеолитическим поражением. Остеолитические поражения могут случаться у субъектов с предрасположенностью к развитию остеолитического поражения, либо же они могут случаться у субъектов с заболеванием, приводящим к остеолитическому поражению или способствующим ему путем стимуляции активности остеокластов. В примерах вариантов осуществления настоящего изобретения остеолитическим поражением может быть остеолитическое разрежение кости или индуцированное раковыми метастазами остеолитическое разрежение кости. В других примерах вариантов осуществления настоящего изобретения к остеолитическому поражению кости относятся нарушение метаболизма костной ткани, в том числе эндокринные заболевания, такие как повышенный уровень кортизона, гипогонадизм, первичный и вторичный гиперпаратиреоз и гипертиреоз; пищевая недостаточность, включая рахит, остеомалацию, цингу и недоедание; остеопороз; прием лекарственных средств, в том числе глюкокортикоидов (индуцированный глюкокортикоидами остеопороз), гепарина и алкоголя; хронические болезни, в том числе синдром мальабсорбции; хроническая почечная недостаточность, включая нефрогенную остеодистрофию; хроническая печеночная недостаточность; наследственные болезни, в том числе незавершенный остеогенез и гемоцистинурия; и воспаление кости, связанное с артритом, ревматоидный артрит, псориазический артрит, фиброзная дисплазия, пародонтоз и болезнь Паджета.

[072] Термины "индуцированное метастазами остеолитическое разрежение кости" и "индуцированное раковыми метастазами остеолитическое разрежение кости" используются в настоящем описании взаимозаменяемо для обозначения остеолита или остеолитического разрежения кости в результате метастаза

раковых клеток в кость. Термин "индуцированная раковыми метастазами активация остеокластов" используется в настоящем описании для обозначения способности раковых клеток, метастазировавших в кость, индуцировать активацию остеокластов.

[073] Термин "опухоль" используется в настоящем описании для обозначения группы клеток, проявляющих аномально высокие уровни пролиферации и роста. Опухоль может быть доброкачественной, предраковой или злокачественной; злокачественные раковые клетки являются раковыми. Опухолевые клетки могут быть солидными опухолевыми клетками или лейкозными опухолевыми клетками. Термин "рост опухоли" используется в настоящем описании для обозначения пролиферации или роста клетки либо клеток, образующих опухоль, что приводит к соответствующему увеличению размера опухоли. Термин "зависимый от CSFIR рост опухоли" используется в настоящем описании для обозначения требования к опухолевой клетке либо клеткам для опосредованной CSFIR функции, чтобы опухолевая клетка либо клетки пролиферировали или росли.

[074] Используемый в настоящем описании термин "Лечение" охватывает любое введение или применение лекарственного средства против болезни млекопитающему, в том числе, человеку, и включает ингибирование болезни или прогрессирования болезни, ингибирование или замедление болезни или ее прогрессирования, купирование ее развития, частичное или полное ослабление болезни, либо излечение болезни, например, путем регрессии, восстановления или восстановления утраченной, отсутствующей или дефектной функции; или стимуляции неэффективного процесса.

[075] Термины "ингибирование" или "ингибировать" обозначают снижение или прекращение любой фенотипической характеристики либо снижение или прекращение частоты, степени или подобия такой характеристики.

[076] Термин "фармацевтически приемлемый носитель" обозначает нетоксичный твердый, полутвердый или жидкий наполнитель, разбавитель, инкапсулирующий материал, вспомогательное вещество рецептуры или носитель, традиционно используемый в области техники для использования с

терапевтическим средством, которые вместе составляют "фармацевтическую композицию" для введения субъекту. Фармацевтически приемлемый носитель является нетоксичным для реципиентов при применяемых дозах и концентрациях, и сравним с другими ингредиентами рецептуры. Фармацевтически приемлемый носитель подходит для используемой рецептуры. Например, если терапевтическое средство необходимо ввести перорально, носителем может быть желатиновая капсула. Если терапевтическое средство необходимо ввести подкожно, идеально, чтобы носитель не раздражал кожу и не вызывал реакцию в месте инъекции.

Антитела к CSF1R

[077] Изобретатели по настоящему описанию изобрели новый набор антител, направленных против CSF1R. К антителам к CSF1R относятся (без ограничения) гуманизированные антитела, химерные антитела, мышьи антитела, человеческие антитела и антитела, включающие тяжелоцепочечные и/или легкоцепочечные CDR, которые приводятся в настоящем описании.

Примеры гуманизированных антител

[078] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются гуманизированные антитела, связывающие CSF1R. Гуманизированные антитела полезны в качестве терапевтических молекул, потому что гуманизированные антитела снижают или исключают иммунный ответ человека к нечеловеческим антителам (такой как ответ на человеческое антимышиное антитело (ЧАМА)), которые могут привести к иммунному ответу на лекарственное средство на основе антитела и снижению эффективности лекарственного средства.

[079] К неограничивающим примерам гуманизированных антител относятся антитела Ab1-Ab16, рассмотренные в настоящем описании. К неограничивающим примерам гуманизированных антител также относятся антитела, включающие переменную область тяжелой цепи антитела, выбранного из Ab1-Ab16 и/или переменная область легкой цепи антитела, выбранного из Ab1-Ab16. К неограничивающим примерам гуманизированных антител относятся антитела, включающие переменную область тяжелой цепи, выбранные из SEQ ID NO: 39-45 и/или переменную область

легкой цепи, выбранные из SEQ ID NO: 46–52. К примерам гуманизированных антител также относятся (без ограничения) гуманизированные антитела, включающие тяжелопепочечный CDR1, CDR2 и CDR3, и/или легкоцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3 антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311.

[080] В некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизированное антитело к CSF1R включает тяжелопепочечный CDR1, CDR2 и CDR3 и/или легкоцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3 антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311. К неограничивающим примерам гуманизированных антител к CSF1R относятся антитела, включающие наборы тяжелопепочечных CDR1, CDR2 и CDR3, выбранные из: SEQ ID NO: 15, 16 и 17; SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и SEQ ID NO: 27, 28 и 29. К неограничивающим примерам гуманизированных антител к CSF1R также относятся антитела, включающие наборы легкоцепочечных CDR1, CDR2 и CDR3, выбранные из: SEQ ID NO: 18, 19 и 20; SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

[081] К неограничивающим примерам гуманизированных антител к CSF1R относятся антитела, включающие наборы тяжелопепочечных CDR1, CDR2 и CDR3 и легкоцепочечных CDR1, CDR2 и CDR3 в таблице 1 (показанный SEQ ID NO; последовательности см. в таблице 8). В каждой строке таблицы 1 показан тяжелопепочечный CDR1, CDR2 и CDR3 и легкоцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3 приведенного в качестве примера антитела.

Таблица 1

Тяжелопепочечные и легкоцепочечные CDR

Тяжелая цепь			Легкая цепь		
CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID
15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31	32

Другие примеры гуманизированных антител

[082] В некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизированное антитело к CSF1R включает тяжелую цепь, включающую последовательность варибельной области, которая по

меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, причем антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизованное антитело к CSF1R включает легкую цепь, включающую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, причем антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизованное антитело к CSF1R включает тяжелую цепь, включающую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45; и легкую цепь, включающую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52; причем антитело связывает CSF1R.

[083] Определить, является ли определенный полипептид, например, по меньшей мере на 95% идентичен аминокислотной последовательности, можно при помощи, например, компьютерной программы. При определении того, является ли определенная последовательность, например, на 95% идентичной контрольной последовательности, процент идентичности рассчитывается по всей длине контрольной аминокислотной последовательности.

[084] В некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизированное антитело к CSF1R включает, по меньшей мере, один из описанных выше CDR. Так в некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизированное антитело к CSF1R включает, по меньшей мере, один CDR, выбранный из описанных в настоящем документе тяжелоцепочечных CDR1, описанных в настоящем документе тяжелоцепочечных CDR2, описанных в настоящем документе тяжелоцепочечных CDR3, описанных в настоящем документе легкоцепочечных CDR1, описанных в настоящем документе легкоцепочечных CDR2 и описанных в настоящем документе легкоцепочечных CDR3. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизированное антитело к CSF1R включает, по меньшей мере, один мутированный CDR на основе описанного в настоящем документе CDR, причем мутированный CDR включает 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замещений по сравнению с описанным в настоящем документе CDR. В некоторых вариантах осуществления изобретения одно или несколько аминокислотных замещений являются консервативными аминокислотными замещениями. Опытный специалист в данной области может выбрать одно или несколько подходящих консервативных аминокислотных замещений для определенной последовательности CDR, причем подходящие консервативные аминокислотные замещения по прогнозам не должны существенно изменять связывающие свойства антитела, содержащего мутированный CDR.

[085] Примерами гуманизированных антител к CSF1R также являются антитела, конкурирующие за связывание CSF1R с описанным в настоящем документе антителом. Так в некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается гуманизированное антитело к CSF1R, которое конкурирует за связывание CSF1R с антителом, выбранным из Fabs 0301, 0302 и 0311; а также бивалентными (т.е. имеющими две тяжелые цепи и две легкие цепи) версиями антител этих Fabs.

Примеры константных областей гуманизированных антител

[086] В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе гуманизированное антитело

включает одну или несколько человеческих константных областей. В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческая константная область тяжелой цепи относится к изотипу, выбранному из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческая константная область легкой цепи относится к изотипу, выбранному из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе гуманизированное антитело включает константную область человеческого IgG. В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе гуманизированное антитело включает константную область тяжелой цепи человеческого IgG4. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе гуманизированное антитело включает мутацию S241P в константной области человеческого IgG4. В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе гуманизированное антитело включает константную область человеческого IgG4 и легкую цепь человеческого κ .

[087] Выбор константной области тяжелой цепи может определить, будет ли антитело иметь эффекторную функцию *in vivo*. Такая эффекторная функция в некоторых вариантах осуществления изобретения включает антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC) и/или комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC), и может привести к убийству клетки, к которой привязывается антитело. В некоторых способах лечения, включая способы лечения некоторых видов рака, убийство клеток может быть желательным, например, когда антитело связывает клетку, которая поддерживает сохранение или рост опухоли. Примерами клеток, которые могут поддерживать сохранение и рост опухоли, являются (без ограничения) сами опухолевые клетки, клетки, способствующие привлечению сосудистой системы к опухоли и клеткам, которые поставляют лиганды, факторы роста или контррецепторы, поддерживающие или способствующие росту и выживанию опухоли. В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда желательной является эффекторная функция, выбирается антитело к CSF1R, включающее

тяжелую цепь человеческого IgG1 или тяжелую цепь человеческого IgG3.

[088] В некоторых способах лечения эффекторная функция может быть нежелательной. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения может быть желательным, чтобы антитела, используемые в лечении РС и/или РА и/или остеолита, не имели эффекторной функции. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к CSF1R, разработанные для лечения рака, могут не подходить для лечения РС и/или РА и/или остеолита. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R, в котором отсутствует существенная эффекторная функция, используется в лечении РС и/или РА и/или остеолита. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R для лечения РС и/или РА и/или остеолита включает константную область тяжелой цепи человеческого IgG4 или IgG2. В некоторых вариантах осуществления изобретения константная область IgG4 включает мутацию S241P.

[089] Антитело может быть гуманизировано любым способом. К неограничивающим примерам способов гуманизации относятся способы, описанные, например, в патентах США № 5530101; 5585089; 5693761; 5693762; 6180370; Jones et al., *Nature* 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332: 323-27 (1988); Verhoeven et al., *Science* 239: 1534-36 (1988); и U.S. Publication No. US 2009/0136500.

[090] Как отмечалось выше, гуманизированное антитело - это антитело, в котором, по меньшей мере, одна аминокислота в каркасном участке нечеловеческой вариабельной области заменена аминокислотой из соответствующего места в человеческом каркасном участке. В некоторых вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 15 или по меньшей мере 20 аминокислот в каркасных участках нечеловеческой вариабельной области

заменены аминокислотой из одного или нескольких соответствующих мест в одном или нескольких человеческих каркасных участках.

[091] В некоторых вариантах осуществления изобретения некоторые из соответствующих человеческих аминокислот, используемых для замещения, взяты из каркасных участков различных человеческих генов иммуноглобулинов. Так, в некоторых из таких вариантов осуществления одна или несколько из нечеловеческих аминокислот могут быть заменены соответствующими аминокислотами из человеческого каркасного участка первого человеческого антитела или закодированы первым человеческим геном иммуноглобулинов, одна или несколько из нечеловеческих аминокислот могут быть заменены соответствующими аминокислотами из человеческого каркасного участка второго человеческого антитела или закодированы вторым человеческим геном иммуноглобулинов, одна или несколько из нечеловеческих аминокислот могут быть заменены соответствующими аминокислотами из человеческого каркасного участка третьего человеческого антитела или закодированы третьим человеческим геном иммуноглобулинов и т.д. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления изобретения все соответствующие человеческие аминокислоты, используемые для замещения в одном каркасном участке, например, FR2, не обязательно должны быть из одного человеческого каркаса. Однако, в некоторых вариантах осуществления изобретения все соответствующие человеческие аминокислоты, используемые для замещения, происходят из одного человеческого каркаса или кодируются одним и тем же человеческим геном иммуноглобулина.

[092] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело гуманизируется путем замены одного или нескольких целых каркасных участков на соответствующие человеческие каркасные участки. В некоторых вариантах осуществления изобретения выбирается человеческий каркасный участок, имеющий наибольший уровень сходства с заменяемым нечеловеческим каркасным участком. В некоторых вариантах осуществления изобретения таким гуманизированным антителом является антитело с трансплантированным CDR.

[093] В некоторых вариантах осуществления изобретения после трансплантации CDR одна или несколько каркасных аминокислот меняется обратно на соответствующую аминокислоту в мышинном каркасном участке. Такая "обратная мутация" проводится в некоторых вариантах осуществления изобретения для удержания одной или нескольких аминокислот мышинного каркаса, которые, по-видимому, способствуют образованию структуры одного или нескольких CDR и/или которые могут участвовать в контактах антигенов и/или участвовать в общей структурной целостности антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения после трансплантации CDR в каркасных участках антитела выполняется десять или меньше, девять или меньше, восемь или меньше, семь или меньше, шесть или меньше, пять или меньше, четыре или меньше, три или меньше, две или меньше, одна или нуль обратных мутаций.

[094] В некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизованное антитело также включает человеческую константную область тяжелой цепи и/или человеческую константную область легкой цепи.

Примеры химерных антител

[095] В некоторых вариантах осуществления изобретения антителом к CSF1R является химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает, по меньшей мере, одну нечеловеческую переменную область и, по меньшей мере, одну человеческую константную область. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения все переменные области антитела к CSF1R являются нечеловеческими переменными областями, а все константные области антитела к CSF1R являются человеческими константными областями. В некоторых вариантах осуществления изобретения одна или несколько переменных областей химерного антитела являются мышинными переменными областями. Человеческая константная область химерного антитела не обязательно должна относиться к одному изотипу, что и нечеловеческая константная область, если таковая есть, которую она заменяет. Химерные антитела рассматриваются, например, в патенте США № 4816567; и Morrison

et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-55 (1984).

[096] Неограничивающими примерами химерных антител являются химерные антитела, включающие переменную область тяжелой и/или легкой цепи антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311. Дополнительными неограничивающими примерами химерных антител являются химерные антитела, включающие тяжелоцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3 и/или легкоцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3 антитела, выбранного из 0301, 0302 и 0311.

[097] Неограничивающими примерами химерных антител к CSF1R являются антитела, включающие следующие пары переменных областей тяжелой и легкой цепи: SEQ ID NO: 9 и 10; SEQ ID NO: 11 и 12; и SEQ ID NO: 13 и 14.

[098] Неограничивающими примерами антител к CSF1R являются антитела, включающие набор тяжелоцепочечного CDR1, CDR2 и CDR3 и легкоцепочечного CDR1, CDR2 и CDR3, показанный выше в таблице 1.

Дополнительные примеры химерных антител

[099] В некоторых вариантах осуществления изобретения химерное антитело к CSF1R включает тяжелую цепь, включающую последовательность переменной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, причем антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения химерное антитело к CSF1R включает легкую цепь, включающую последовательность переменной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, причем антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения химерное антитело к CSF1R включает тяжелую цепь, включающую последовательность

вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45; и легкую цепь, включающую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52; причем антители связывает CSF1R.

[0100] В некоторых вариантах осуществления изобретения химерное антитело к CSF1R включает, по меньшей мере, один из описанных в настоящем документе CDR. Так в некоторых вариантах осуществления изобретения химерное антитело к CSF1R включает, по меньшей мере, один CDR, выбранный из описанного в настоящем документе тяжелоцепочечного CDR1, описанного в настоящем документе тяжелоцепочечного CDR2, описанного в настоящем документе тяжелоцепочечного CDR3, легкоцепочечного описанного в настоящем документе CDR1, легкоцепочечного описанного в настоящем документе CDR2 и легкоцепочечного описанного в настоящем документе CDR3. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления изобретения химерное антитело к CSF1R включает, по меньшей мере, один мутированный CDR на основе описанного в настоящем документе CDR, причем мутированный CDR включает 1, 2, 3 или 4 замещенные аминокислоты по сравнению с описанным в настоящем документе CDR. В некоторых вариантах осуществления изобретения одно или несколько аминокислотных замещений являются консервативными аминокислотными замещениями. Опытный специалист в данной области может выбрать одно или несколько подходящих консервативных аминокислотных замещений для определенной последовательности CDR, причем подходящие консервативные аминокислотные замещения по прогнозам не должны существенно изменять связывающие свойства антитела, содержащего

мутированный CDR.

[0101] Примерами химерных антител к CSF1R также являются химерные антитела, конкурирующие за связывание CSF1R с описанным в настоящем документе антителом. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается химерное антитело к CSF1R, которое конкурирует за связывание CSF1R с антителом, выбранным из Fabs 0301, 0302 и 0311; а также бивалентными (т.е. имеющими две тяжелые цепи и две легкие цепи) версиями антител этих Fabs.

Примеры константных областей химерных антител

[0102] В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе химерное антитело включает одну или несколько человеческих константных областей. В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческая константная область тяжелой цепи относится к изотипу, выбранному из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческая константная область легкой цепи относится к изотипу, выбранному из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе химерное антитело включает константную область человеческого IgG. В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе химерное антитело включает константную область тяжелой цепи человеческого IgG4. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе химерное антитело включает мутацию S241P в константной области человеческого IgG4. В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе химерное антитело включает константную область человеческого IgG4 и легкую цепь человеческого κ .

[0103] Как отмечалось выше, то, является ли желательной эффекторная функция, может зависеть от конкретного способа лечения, для которого предназначено антитело. Так в некоторых вариантах осуществления изобретения, когда эффекторная функция является желательной, выбирается химерное антитело к CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи человеческого IgG1 или константная область тяжелой цепи человеческого IgG3. В

некоторых вариантах осуществления изобретения, когда эффекторная функция является нежелательной, выбирается химерное антитело к CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи человеческого IgG4 или IgG2.

Примеры человеческих антител

[0104] Человеческие антитела могут быть получены любыми подходящими способами. Неограничивающими примерами таких способов является получение человеческих антител в трансгенных мышцах, имеющих локусы человеческих иммуноглобулинов. См., например, Jakobovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2551-55 (1993); Jakobovits et al., *Nature* 362: 255-8 (1993); Lonberg et al., *Nature* 368: 856-9 (1994); и патенты США № 5545807; 6713610; 6673986; 6162963; 5545807; 6300129; 6255458; 5877397; 5874299; и 5545806.

[0105] Неограничивающими примерами способов также являются получение человеческих антител при помощи фагового отображения. См., например, Hoogenboom et al., *J. Mol. Biol.* 227: 381-8 (1992); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-97 (1991); и Публикация РСТ № WO 99/10494.

[0106] В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческое антитело к CSF1R связывает полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO: 1. Примерами человеческих антител к CSF1R также являются антитела, конкурирующие за связывание CSF1R с описанным в настоящем документе антителом. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается человеческое антитело к CSF1R, конкурирующее за связывание CSF1R с антителом, выбранным из Fabs 0301, 0302 и 0311, а также бивалентными (т.е. имеющими две тяжелые цепи и две легкие цепи) версиями антител этих Fabs.

[0107] В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческое антитело к CSF1R включает одну или несколько константных областей. В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческая константная область тяжелой цепи относится к изотипу, выбранному из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческая константная область легкой цепи относится к изотипу, выбранному из κ и λ . В

некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе человеческое антитело включает константную область человеческого IgG. В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе человеческое антитело включает константную область тяжелой цепи человеческого IgG4. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе человеческое антитело включает мутацию S241P в константной области человеческого IgG4. В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе человеческое антитело включает константную область человеческого IgG4 и легкую цепь человеческого к.

[0108] В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда эффекторная функция является желательной, выбирается человеческое антитело к CSF1R, включающее константную область тяжелой цепи человеческого IgG1 или константную область тяжелой цепи человеческого IgG3. В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда эффекторная функция является нежелательной, выбирается человеческое антитело к CSF1R, включающее константную область тяжелой цепи человеческого IgG4 или IgG2.

Дополнительные примеры антител к CSF1R

[0109] Примерами антител к CSF1R также являются (без ограничения) мышинные, гуманизированные, химерные и полученные методами генной инженерии антитела, которые включают, например, одну или несколько описанных в настоящем документе последовательностей CDR. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает описанную в настоящем документе переменную область тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает описанную в настоящем документе переменную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает описанную в настоящем документе переменную область тяжелой цепи и описанную в настоящем документе переменную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает описанный в настоящем документе тяжелоцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3. В

некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает описанный в настоящем документе легкоцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает описанный в настоящем документе тяжелоцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3 и описанный в настоящем документе легкоцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3.

[0110] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает переменную область тяжелой цепи антитела, выбранного из Fabs 0301, 0302 и 0311. Неограничивающими примерами антител к CSF1R также являются антитела, включающие переменную область тяжелой цепи антитела, выбранного из гуманизированных антител Ab1-Ab16. Неограничивающими примерами антител к CSF1R являются антитела, включающие переменную область тяжелой цепи, включающую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

[0111] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает переменную область легкой цепи антитела, выбранного из Fabs 0301, 0302 и 311. Неограничивающими примерами антител к CSF1R также являются антитела, включающие переменную область легкой цепи антитела, выбранного из гуманизированных антител Ab1-Ab16. Неограничивающими примерами антител к CSF1R являются антитела, включающие переменную область легкой цепи, включающую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

[0112] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи антитела, выбранного из Fabs 0301, 0302 и 0311. Неограничивающими примерами антител к CSF1R также являются антитела, включающие переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи антитела, выбранного из гуманизированных антител Ab1-Ab16. Неограничивающими примерами антител к CSF1R являются антитела, включающие следующие пары переменных областей тяжелой и легкой цепи: SEQ ID NO: 9 и 10; SEQ ID NO: 11 и 12; и SEQ ID NO: 13 и 14; SEQ ID NO: 39 и 40; SEQ ID NO: 41 и 42; SEQ ID NO: 43 и 44; SEQ ID NO: 45 и 46; SEQ ID NO: 47 и 48; SEQ ID NO: 49

и 50; и SEQ ID NO: 51 и 52. Неограничивающими примерами антител к CSF1R также являются антитела, включающие следующие пары тяжелых и легких цепей: SEQ ID NO: 33 и 34; SEQ ID NO: 35 и 36; и SEQ ID NO: 37 и 38.

[0113] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает тяжелцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3 антитела, выбранного из Fabs 0301, 0302 и 0311. Неограничивающими примерами антител к CSF1R являются антитела, включающие наборы тяжелцепочечных CDR1, CDR2 и CDR3, выбранных из: SEQ ID NO: 15, 16 и 17; SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и SEQ ID NO: 27, 28 и 29.

[0114] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает легкоцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3 антитела, выбранного из Fabs 0301, 0302 и 0311. Неограничивающими примерами антител к CSF1R являются антитела, включающие наборы легкоцепочечных CDR1, CDR2 и CDR3, выбранных из: SEQ ID NO: 18, 19 и 20; SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

[0115] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает тяжелцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3 и легкоцепочечный CDR1, CDR2 и CDR3 антитела, выбранного из Fabs 0301, 0302 и 0311.

[0116] Неограничивающими примерами антител к CSF1R являются антитела, включающие наборы тяжелцепочечных CDR1, CDR2 и CDR3 и легкоцепочечных CDR1, CDR2 и CDR3, показанные в таблице 1.

Другие примеры антител

[0117] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает тяжелую цепь, включающую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, причем антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах

осуществления изобретения антитело к CSF1R включает легкую цепь, включающую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, причем антитело связывает CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает тяжелую цепь, включающую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45; и легкую цепь, включающую последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52; причем антитело связывает CSF1R.

[0118] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает, по меньшей мере, один из описанных в настоящем документе CDR. Так в некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает, по меньшей мере, один CDR, выбранный из описанного в настоящем документе тяжелоцепочечного CDR1, описанного в настоящем документе тяжелоцепочечного CDR2, описанного в настоящем документе тяжелоцепочечного CDR3, описанного в настоящем документе легкоцепочечного CDR1, описанного в настоящем документе легкоцепочечного CDR2 и описанного в настоящем документе легкоцепочечного CDR3. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R включает, по меньшей мере, один мутированный CDR на основе описанного в настоящем

документе CDR, причем мутированный CDR включает 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замещений по сравнению с описанным в настоящем документе CDR. В некоторых вариантах осуществления изобретения одно или несколько аминокислотных замещений являются консервативными аминокислотными замещениями. Опытный специалист в данной области может выбрать одно или несколько подходящих консервативных аминокислотных замещений для определенной последовательности CDR, причем подходящие консервативные аминокислотные замещения по прогнозам не должны существенно изменять связывающие свойства антитела, содержащего мутированный CDR.

[0119] Примерами антител к CSF1R также являются антитела, конкурирующие за связывание CSF1R с описанным в настоящем документе антителом. Так в некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается антитело к CSF1R, которое конкурирует за связывание CSF1R с антителом, выбранным из Fabs 0301, 0302 и 0311; а также бивалентными (т.е. имеющими две тяжелые цепи и две легкие цепи) версиями антител этих Fabs.

Примеры константных областей антител

[0120] В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе антитело включает одну или несколько константных областей. В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческая константная область тяжелой цепи относится к изотипу, выбранному из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческая константная область легкой цепи относится к изотипу, выбранному из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе антитело включает константную область человеческого IgG. В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе антитело включает константную область тяжелой цепи человеческого IgG4. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе антитело включает мутацию S241P в константной области человеческого IgG4. В некоторых вариантах осуществления изобретения описанное в настоящем документе антитело включает константную область человеческого IgG4 и

легкую цепь человеческого к.

[0121] Как отмечалось выше, то, является ли желательной эффекторная функция, может зависеть от конкретного способа лечения, для которого предназначено антитело. Так, в некоторых вариантах осуществления изобретения, когда эффекторная функция является желательной, выбирается антитело к CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи человеческого IgG1 или константная область тяжелой цепи человеческого IgG3. В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда эффекторная функция является нежелательной, выбирается антитело к CSF1R, содержащее константную область тяжелой цепи человеческого IgG4 или IgG2.

Примеры переменных областей тяжелой цепи антител к CSF1R

[0122] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются переменные области тяжелой цепи антитела к CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения переменной областью тяжелой цепи антитела к CSF1R является мышиная переменная область, человеческая переменная область или гуманизованная переменная область.

[0123] Переменная область тяжелой цепи антитела к CSF1R включает тяжелоцепочечный CDR1, FR2, CDR2, FR3 и CDR3. В некоторых вариантах осуществления изобретения переменная область тяжелой цепи антитела к CSF1R дополнительно включает тяжелую цепь FR1 и/или FR4. Неограничивающими примерами переменных областей тяжелой цепи являются (без ограничения) переменные области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

[0124] В некоторых вариантах осуществления изобретения переменная область тяжелой цепи антитела к CSF1R включает CDR1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 15, 21 и 27.

[0125] В некоторых вариантах осуществления изобретения переменная область тяжелой цепи антитела к CSF1R включает CDR2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 16, 22 и 28.

[0126] В некоторых вариантах осуществления изобретения

вариабельная область тяжелой цепи антитела к CSF1R включает CDR3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17, 23 и 29.

[0127] Неограничивающими примерами вариабельных областей тяжелой цепи являются (без ограничения) вариабельные области тяжелой цепи, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3, выбранные из: SEQ ID NO: 15, 16 и 17; SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и SEQ ID NO: 27, 28 и 29.

[0128] В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь антитела к CSF1R включает последовательность вариабельной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, причем тяжелая цепь вместе с легкой цепью могут формировать антитело, связывающее CSF1R.

[0129] В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь антитела к CSF1R включает, по меньшей мере, один из описанных в настоящем документе CDR. Так в некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь антитела к CSF1R включает, по меньшей мере, один CDR, выбранный из описанного в настоящем документе тяжелоцепочечного CDR1, описанного в настоящем документе тяжелоцепочечного CDR2 и описанного в настоящем документе тяжелоцепочечного CDR3. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь антитела к CSF1R включает, по меньшей мере, один мутированный CDR на основе описанного в настоящем документе CDR, причем мутированный CDR включает 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замещений по сравнению с описанным в настоящем документе CDR. В некоторых вариантах осуществления изобретения одно или несколько аминокислотных замещений являются консервативными аминокислотными замещениями. Опытный специалист в данной области может выбрать одно или несколько подходящих консервативных аминокислотных замещений для определенной последовательности CDR, причем подходящие консервативные

аминокислотные замещения по прогнозам не должны существенно изменять связывающие свойства тяжелой цепи, содержащей мутированный CDR.

[0130] В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь включает константную область тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь включает человеческую константную область тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческая константная область тяжелой цепи относится к изотипу, выбранному из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческая константная область тяжелой цепи является константной областью IgG. В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь включает константную область тяжелой цепи человеческого IgG4. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения константная область тяжелой цепи человеческого IgG4 включает мутацию S241P.

[0131] В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда эффекторная функция является желательной, тяжелая цепь включает константную область тяжелой цепи человеческого IgG1 или IgG3. В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда эффекторная функция менее желательна, тяжелая цепь включает константную область тяжелой цепи человеческого IgG4 или IgG2.

Примеры переменных областей легкой цепи антител к CSF1R

[0132] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются переменные области легкой цепи антитела к CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения переменной областью легкой цепи антитела к CSF1R является мышиная переменная область, человеческая переменная область или гуманизованная переменная область.

[0133] Переменная область легкой цепи антитела к CSF1R включает легкоцепочечный CDR1, FR2, CDR2, FR3 и CDR3. В некоторых вариантах осуществления изобретения переменная область легкой цепи антитела к CSF1R дополнительно включает легкую цепь FR1 и/или FR4. Неограничивающими примерами переменных областей легкой цепи являются переменные области

легкой цепи, имеющие аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

[0134] В некоторых вариантах осуществления изобретения переменная область легкой цепи антитела к CSF1R включает CDR1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 18, 24 и 30.

[0135] В некоторых вариантах осуществления изобретения переменная область легкой цепи антитела к CSF1R включает CDR2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 19, 25 и 31.

[0136] В некоторых вариантах осуществления изобретения переменная область легкой цепи антитела к CSF1R включает CDR3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20, 26 и 32.

[0137] Неограничивающими примерами переменных областей легкой цепи являются (без ограничения) переменные области легкой цепи, содержащие наборы CDR1, CDR2 и CDR3, выбранные из: SEQ ID NO: 18, 19 и 20; SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

[0138] В некоторых вариантах осуществления изобретения легкая цепь антитела к CSF1R включает последовательность переменной области, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, причем легкая цепь вместе с тяжелой цепью могут формировать антитело, связывающее CSF1R.

[0139] В некоторых вариантах осуществления изобретения легкая цепь антитела к CSF1R включает, по меньшей мере, один из описанных в настоящем документе CDR. Так в некоторых вариантах осуществления изобретения легкая цепь антитела к CSF1R включает, по меньшей мере, один CDR, выбранный из описанного в настоящем документе легкоцепочечного CDR1, описанного в настоящем документе легкоцепочечного CDR2 и описанного в настоящем документе легкоцепочечного CDR3. Кроме того, в

некоторых вариантах осуществления изобретения легкая цепь антитела к CSF1R включает, по меньшей мере, один мутированный CDR на основе описанного в настоящем документе CDR, причем мутированный CDR включает 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замещений по сравнению с описанным в настоящем документе CDR. В некоторых вариантах осуществления изобретения одно или несколько аминокислотных замещений являются консервативными аминокислотными замещениями. Опытный специалист в данной области может выбрать одно или несколько подходящих консервативных аминокислотных замещений для определенной последовательности CDR, причем подходящие консервативные аминокислотные замещения по прогнозам не должны существенно изменять связывающие свойства легкой цепи, содержащей мутированный CDR.

[0140] В некоторых вариантах осуществления изобретения легкая цепь включает человеческую константную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления изобретения человеческая константная область легкой цепи выбирается из константной области легкой цепи человеческого κ и человеческого λ .

Примеры дополнительных связывающих CSF1R молекул

[0141] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются дополнительные молекулы, связывающие CSF1R. К таким молекулам относятся (без ограничения) неканонические клеточные каркасы, такие как антикарины, аднектины, анкирин-повторяющиеся элементы и т.п. См., например, Hosse et al., Prot. Sci. 15:14 (2006); Fiedler, M. и Skerra, A., "Non-Antibody Scaffolds," pp.467-499 in Handbook of Therapeutic Antibodies, Dubel, S., ed., Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2007.

Примеры свойств антител к CSF1R

[0142] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело, имеющее описанную выше структуру, связывает CSF1R со связывающей способностью (K_D) меньше 1 нМ, блокирует связывание CSF1 и/или IL34 с CSF1R и ингибирует фосфорилирование CSF1R, индуцированное CSF1 и/или IL34.

[0143] В некоторых вариантах осуществления изобретения

антитело к CSF1R связывается с внеклеточным доменом CSF1R (CSF1R-ECD). В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R обладает связывающей способностью (K_D) с CSF1R меньше 1 нМ, меньше 0,5 нМ, меньше 0,1 нМ или меньше 0,05 нМ. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R имеет K_D между 0,01 и 1 нМ, между 0,01 и 0,5 нМ, между 0,01 и 0,1 нМ, между 0,01 и 0,05 нМ или между 0,02 и 0,05 нМ.

[0144] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R блокирует лиганд, связывающий CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R блокирует связывание CSF1 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R блокирует связывание IL34 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R блокирует связывание как CSF1, так и IL34 с CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело, которое блокирует связывание лиганда, связывается с внеклеточным доменом CSF1R. Считается, что антитело "блокирует связывание лиганда с CSF1R", когда оно снижает величину обнаруживаемого связывания лиганда с CSF1R, как по меньшей мере, на 50%, при помощи количественного анализа, описанного в примере 7. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело снижает величину обнаруживаемого связывания лиганда с CSF1R, по меньшей мере, на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90%, с использованием количественного анализа, описанного в примере 7. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения говорят, что антитело блокирует связывание лиганда, по меньшей мере, на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% и т.д.

[0145] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R ингибирует индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R ингибирует индуцируемое CSF1 фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R ингибирует индуцируемое IL34 фосфорилирование CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R ингибирует фосфорилирование CSF1R,

индуцируемое как CSF1, так и индуцируемое IL34. Считается, что антитело "ингибирует индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R", когда оно снижает величину обнаруживаемого индуцируемого лигандом фосфорилирования CSF1R, по меньшей мере, на 50%, с использованием количественного анализа, описанного в примере 6. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело снижает величину обнаруживаемого индуцируемого лигандом фосфорилирования CSF1R, по меньшей мере, на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90%, с использованием количественного анализа, описанного в примере 6. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения говорят, что антитело снижает индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R, по меньшей мере, на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% и т.д.

[0146] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело ингибирует пролиферацию и/или реакции выживания моноцитов в присутствии CSF1 и/или IL34. Считается, что антитело "ингибирует пролиферацию и/или реакции выживания моноцитов" когда оно снижает величину пролиферации моноцитов и/или реакции выживания в присутствии CSF1 и/или IL34, по меньшей мере, на 50%, с использованием количественного анализа, описанного в примере 10. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело снижает величину пролиферации моноцитов и/или реакции выживания в присутствии CSF1 и/или IL34, по меньшей мере, на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или по меньшей мере на 90%, с использованием количественного анализа, описанного в примере 10. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения говорят, что антитело ингибирует пролиферацию и/или реакции выживания моноцитов, по меньшей мере, на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% и т.д.

Примеры конъюгатов антител

[0147] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R конъюгировано с меткой и/или цитотоксическим агентом. Используемый в настоящем описании термин "метка" означает агента, который облегчает обнаружение антитела и/или

облегчает обнаружение молекулы, с которой антитело связано. Неограничивающими примерами меток являются (без ограничения) радиоизотопы, флуоресцентные группы, ферментативные группы, хемилюминесцентные группы, биотин, эпитопные метки, связывающие металл метки и т.п. Опытный специалист в данной области может выбрать подходящую метку в соответствии с предполагаемым применением.

[0148] Используемый в настоящем описании термин "цитотоксический агент" - это агент, снижающий пролиферативный потенциал одной или нескольких клеток. Клетка снижает свой пролиферативный потенциал, если снижается ее способность пролиферировать, например, потому что клетка подвергается апоптозу или иначе умирает, клетка не может пройти жизненный цикл клетки и/или не делиться, клетка дифференцирует и т.п. Неограничивающими примерами цитотоксических агентов являются (без ограничения) радиоизотопы, токсины и химиотерапевтические средства. Опытный специалист в данной области может выбрать подходящий цитотоксический агент в соответствии с предполагаемым применением.

[0149] В некоторых вариантах осуществления изобретения метка и/или цитотоксический агент конъюгируются с антителом при помощи химических методов *in vitro*. Неограничивающими примерами химических методов конъюгирования, известными из уровня техники, являются услуги, методы и/или реактивы, которые предоставляются такими компаниями, как, например, Thermo Scientific Life Science Research Produces (бывшее название Pierce; Рокфорд, Иллинойс), Prozyme (Хейвард, Калифорния), SACRI Antibody Services (Калгари, Канада), AbD Serotec (Роли, Северная Каролина) и т.д. В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда метка и/или цитотоксический агент является полипептидом, метка и/или цитотоксический агент может быть экспрессирован из одного и того же вектора экспрессии, по меньшей мере, одной цепью антитела для выработки полипептида, содержащего метку и/или цитотоксический агент, слитый с цепью антитела. Опытный специалист в данной области может выбрать подходящий способ конъюгирования метки и/или цитотоксического

агента с антителом в соответствии с предполагаемым применением.

Примеры лидерных последовательностей

[0150] Чтобы некоторые секретированные белки могли экспрессировать и секретироваться в больших количествах, может потребоваться лидерная последовательность из гетерологического белка. В некоторых вариантах осуществления изобретения лидерная последовательность выбирается из SEQ ID NO: 3 и 4, которая является лидерной последовательностью легкой цепи и тяжелой цепи соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения использование гетерологических лидерных последовательностей может иметь преимущества в том, что результирующий зрелый полипептид может оставаться неизменным при удалении лидерной последовательности в ЭР во время процесса секретирования. Добавление гетерологической лидерной последовательности может потребоваться для экспрессирования и секретирования некоторых белков.

[0151] Описаны некоторые примеры лидерных последовательностей, например, в онлайн базе данных лидерных последовательностей, которую ведет факультет биохимии Национального университета Сингапура. См. Choo et al., *BMC Bioinformatics*, 6: 249 (2005); и Публикацию РСТ № WO 2006/081430.

Молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие антитела к CSF1R

[0152] Предлагаются молекулы нуклеиновых кислот, включающие полинуклеотиды, кодирующие одну или несколько цепей антител к CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения молекула нуклеиновой кислоты включает полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь или легкую цепь антитела к CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения молекула нуклеиновой кислоты включает как полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, так и полинуклеотид, который кодирует легкую цепь антитела к CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения первая молекула нуклеиновой кислоты включает первый полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, а вторая молекула нуклеиновой кислоты включает второй полинуклеотид, который кодирует легкую цепь.

[0153] В некоторых таких вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются из одной молекулы нуклеиновой кислоты или из двух отдельных молекул нуклеиновой кислоты в виде двух отдельных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда, например, антителом является scFv, один полинуклеотид кодирует один полипептид, включающий как тяжелую цепь, так и легкую цепь, связанные между собой.

[0154] В некоторых вариантах осуществления изобретения полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь антитела к CSF1R, включает нуклеотидную последовательность, которая кодирует лидерную последовательность, которая при трансляции располагается на N-конце тяжелой цепи или легкой цепи. Как упоминалось выше, лидерная последовательность может быть нативной лидерной последовательностью тяжелой или легкой цепи либо может быть другой гетерологической лидерной последовательностью.

[0155] Молекулы нуклеиновых кислот могут конструироваться с использованием технологий рекомбинантных ДНК, являющихся традиционными в данной области. В некоторых вариантах осуществления изобретения молекула нуклеиновой кислоты является вектором экспрессии, подходящим для экспрессии в выбранной клетке-хозяине.

Экспрессия и выработка антител к CSF1R

Векторы

[0156] Предлагаются векторы, включающие полинуклеотиды, кодирующие тяжелые цепи антител к CSF1R и/или легкие цепи антител к CSF1R. Предлагаются также векторы, включающие полинуклеотиды, кодирующие тяжелые цепи антител к CSF1R и/или легкие цепи антител к CSF1R. К таким векторам относятся (без ограничения) ДНК-векторы, фаговые векторы, вирусные векторы, ретровирусные векторы и т.д. В некоторых вариантах осуществления изобретения вектор включает первую полинуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь, и вторую полинуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая

цепь и легкая цепь экспрессируются из вектора в виде двух отдельных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются в виде части одного полипептида, как, например, когда антителом является scFv.

[0157] В некоторых вариантах осуществления изобретения первый вектор включает полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, а второй вектор включает полинуклеотид, который кодирует легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления изобретения первый вектор и второй вектор трансфицируются в клетки-хозяева в одинаковых количествах (например, одинаковых молярных количествах или одинаковых массовых количествах). В некоторых вариантах осуществления изобретения первый вектор и второй вектор в молярном или массовом отношении от 5:1 до 1:5 трансфицируются в клетки-хозяева. В некоторых вариантах осуществления изобретения для вектора, кодирующего тяжелую цепь, и вектора, кодирующего легкую цепь, используется массовое отношение от 1:1 до 1:5. В некоторых вариантах осуществления изобретения для вектора, кодирующего тяжелую цепь, и вектора, кодирующего легкую цепь, используется массовое отношение 1:2.

[0158] В некоторых вариантах осуществления изобретения выбирается вектор, оптимизированный для экспрессии полипептидов в клетках CHO или клетках, полученных из CHO, или в клетках NSO. Примеры таких векторов описаны, например, в Running Deer et al., *Biotechnol. Prog.* 20:880-889 (2004).

[0159] В некоторых вариантах осуществления изобретения вектор выбирается для экспрессии *in vivo* тяжелых цепей антител к CSF1R и/или легких цепей антител к CSF1R в животных, в том числе у людей. В некоторых таких вариантах осуществления изобретения экспрессия полипептида находится под контролем промотора, действующего тканеспецифически. Например, специфичные для печени промоторы описаны, например, в публикации PCT № WO 2006/076288.

Клетки-хозяева

[0160] В различных вариантах осуществления изобретения тяжелые цепи антитела к CSF1R и/или легкие цепи антитела к

CSF1R могут экспрессироваться в прокариотических клетках, таких как бактериальные клетки, или в эукариотических клетках, таких как грибковые клетки (например, дрожжи), растительные клетки, клетки насекомых и клетки млекопитающих. Такая экспрессия может быть выполнена, например, в соответствии с процедурами, известными из уровня техники. Примерами эукариотических клеток, которые могут использоваться для экспрессии полипептидов, являются (без ограничения) клетки COS, включая клетки COS 7; клетки 293, включая клетки 293-6E; клетки CHO, включая клетки CHO-S и DG44; клетки PER.C6® (Crucell); и клетки NSO. В некоторых вариантах осуществления изобретения тяжелые цепи антитела к CSF1R и/или легкие цепи антитела к CSF1R могут экспрессироваться в дрожжах. См., например, Публикацию США № US 2006/0270045 A1. В некоторых вариантах осуществления изобретения конкретная эукариотическая клетка-хозяин выбирается, исходя из ее способности создавать желательные пост-трансляционные модификации в тяжелых цепях антитела к CSF1R и/или легких цепях антитела к CSF1R. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения клетки CHO вырабатывают полипептиды, имеющие более высокий уровень сиаилирования, чем тот же полипептид, вырабатываемый в клетках 293.

[0161] Введение одной или нескольких нуклеиновых клеток в желательную клетку-хозяина можно выполнить любым способом, в том числе (без ограничения) при помощи кальциево-фосфатной трансфекции, опосредованной ДЭАЭ-декстраном трансфекции, опосредованной катионными липидами трансфекции, электропорации, трансдукции, инфекции и т.д. Неограничивающие примеры способов описаны, например, в Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001). Нуклеиновые кислоты могут трансфицироваться временно или постоянно в желаемые клетки-хозяева с использованием любого подходящего метода.

[0162] В некоторых вариантах осуществления изобретения один или несколько полипептидов могут вырабатываться *in vivo* в животном, полученном методом геной инженерии или

трансфицированным одной или несколькими молекулами нуклеиновых кислот, кодирующими полипептиды с использованием любого подходящего способа.

Очистка антител к CSF1R

[0163] Антитела к CSF1R могут очищаться с использованием любого подходящего способа. К таким способам относятся (без ограничения) использование аффинных матриц или хроматографии с гидрофобным взаимодействием. К подходящим аффинным лигандам относятся CSF1R ECD и лиганды, связывающие константные области антитела. Например, могут использоваться Белок А, Белок G, Белок А/G или колонка для аффинной хроматографии антител для связывания константной области и для очистки антитела к CSF1R. Хроматография с гидрофобным взаимодействием, например, бутиловая или фениловая колонка, также может подойти для очистки некоторых полипептидов. Из уровня техники известно множество способов очистки полипептидов.

Бесклеточное получение антител к CSF1R

[0164] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R вырабатывается в бесклеточной системе. Неограничивающие примеры бесклеточных систем описаны, например, в Sitaraman et al., *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44 (2009); Spirin, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45 (2004); Endo et al., *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003).

Фармацевтические композиции и способы

Способы лечения болезней при помощи антител к CSF1R

[0165] Предлагаются антитела по настоящему изобретению и композиции, включающие антитела по настоящему изобретению, для использования в способах лечения людей и животных. Предлагаются также способы лечения болезней, включающие введение антител к CSF1R. Неограничивающими примерами болезней, которые можно лечить при помощи антител к CSF1R являются (без ограничения) РА, РС, рак, индуцированное метастазами остеолетическое разрежение кости, остеолетические поражения и индуцированное гиперкальциемией разрежение кости.

[0166] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются способы лечения воспалительных состояний,

включающие введение антител к CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения воспалительным состоянием может быть псориаз, СКВ (волчанка), ХНЗЛ, атопический дерматит и атеросклероз, синдром активации макрофага и гистиоцитоз X.

[0167] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются способы лечения воспалительных состояний, включающие введение антител к CSF1R, при этом воспалительным состоянием может быть: пролиферативное сосудистое заболевание, синдром острой дыхательной недостаточности, опосредованная цитокином токсичность, токсичность интерлейкина-2, аппендицит, пептическая язва, язва желудка и двенадцатиперстной кишки, перитонит, панкреатит, язвенный, псевдомембранозный, острый и ишемический колит, дивертикулит, эпиглоттит, ахалазия, холангит, холецистит, гепатит, воспалительное заболевание кишечника, болезнь Крона, энтерит, болезнь Уиппла, астма, аллергия, анафилактический шок, болезнь иммунных комплексов, ишемия органа, реперфузионное повреждение, некроз органа, сенная лихорадка, сепсис, септицемия, эндотоксический шок, кахексия, гиперпирексия, эозинофильная гранулема, гранулематоз, саркоидоз, септический аборт, эпидидимит, вагинит, простатит, уретрит, бронхит, эмфизема, ринит, кистозный фиброз, пневмония, альвеолит, бронхиолит, фарингит, плеврит, синусит, грипп, респираторно-синцитиальная вирусная инфекция, герпес, ВИЧ-инфекция, вирус гепатита В, вирус гепатита С, рассеянная бактериемия, лихорадка денге, кандидоз, малярия, филяриоз, амебиаз, гидатидная киста, ожоги, дерматит, дерматомиозит, солнечный ожог, уртикария, наросты на коже, волдыри, васкулит, ангиит, эндокардит, артериит, атеросклероз, тромбофлебит, перикардит, миокардит, ишемия миокарда, узелковый периартериит, острая ревматическая лихорадка, болезнь Альцгеймера, глютеновая болезнь, застойная сердечная недостаточность, менингит, энцефалит, церебральный инфаркт, церебральная эмболия, синдром Гийена-Барре, неврит, невралгия, повреждение спинного мозга, паралич, увеит, артриты, артралгия, остеомиелит, фасциит, болезнь Паджета, подагра, парадонтоз, синовит, тяжелая миастения, тиреодит, системная красная волчанка, синдром

Гудпасчера, синдром Бехчета, отторжение аллотрансплантата, реакция "трансплантат против хозяина", анкилозирующий спондилоартрит, болезнь Бергера, диабет 1-го типа, диабет 2-го типа, болезнь Бергера, синдром Рейтера и болезнь Ходжкина, или в лечении воспаления, связанного с этими состояниями.

[0168] В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагаются способы лечения рака, включающие введение антител к CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения раком является рак, секретирующий CSF1. В некоторых вариантах осуществления изобретения раком может быть один или несколько следующих видов рака: рак груди, рак простаты, эндометриальный рак, рак мочевого пузыря, рак почек, рак пищевода, плоскоклеточная карцинома, увеальная меланома, фолликулярная лимфома, почечно-клеточный рак, рак шейки матки, рак яичников. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к CSF1R полезно для лечения одного или нескольких следующих видов рака: рак легких, колоректальный рак, рак мозга, рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, рак печени, лейкемия, лимфома, болезнь Ходжкина, множественная миелома, меланома, астроцитомы, рак желудка и аденокарцинома легких.

Пути введения и носители

[0169] В различных вариантах осуществления изобретения антитела к CSF1R могут вводиться *in vivo* различными путями, в том числе (без ограничения) перорально, внутриартериально, парентерально, интраназально, внутримышечно, внутрисердечно, внутрижелудочно, интратрахеально, буккально, ректально, внутрибрюшинно, внутрикожно, локально, чрезкожно и другими способами путем имплантации или ингаляции. Композиции могут быть приготовлены в твердом, полутвердом, жидком или газообразном виде, в том числе (без ограничений) в виде таблеток, капсул, порошков, гранул, мазей, растворов, суппозиторий, клизм, инъекций, ингаляторов и аэрозолей. Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие антитело к CSF1R, могут быть нанесены в виде покрытия на золотые микрочастицы и введены внутрикожно при помощи устройства бомбардировки частицами, или "генетической пушки", описанной в литературе

(См., например, Tang et al., *Nature* 356:152-154 (1992)). Подходящую рецептуру и путь введения можно выбрать в соответствии с предполагаемым применением.

[0170] В различных вариантах осуществления изобретения предлагаются композиции, включающие антитела к CSF1R, в рецептурах с широким разнообразием фармацевтически приемлемых носителей (См., например, Gennaro, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus*, 20th ed. (2003); Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe et al., *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000)). Имеются различные фармацевтически приемлемые носители, такие как основы, вспомогательные вещества и разбавители. Имеются также различные фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, такие как средства корректировки pH и буферные средства, средства корректировки тоничности, стабилизаторы, смачивающие средства и т.п. Неограниченными примерами носителей являются солевой раствор, забуферный физиологический раствор, дектроза, вода, глицерин, этанол и их комбинации.

[0171] В различных вариантах осуществления изобретения композиции, включающие антитела к CSF1R, могут быть подготовлены для инъекции, в том числе подкожного введения, путем растворения, взвешивания или эмульгирования их в водном или неводном растворителе, таком как растительные или другие масла, синтетических глицеридах алифатических кислот, эфирах высших алифатических кислот, или пропиленгликоле; и, по желанию, с традиционными добавками, такими как солюбилизаторы, изотонические средства, суспендирующие средства, эмульгирующие средства, стабилизаторы и консерванты. В различных вариантах осуществления изобретения композиции могут быть приготовлены для ингаляции, например, при помощи приемлемых газ-вытеснителей под давлением, таких как дихлорфторметан, пропан, азот и т.п. Композиции могут быть также приготовлены в различных вариантах осуществления изобретения в виде микрокапсул с замедленным высвобождением, например, с

биоразлагаемыми или небiorазлагаемыми полимерами. Неограничивающим примером биоразлагаемых композиций является полимер полимолочной и гликолевой кислоты. Неограничивающим примером небiorазлагаемых композиций является сложный эфир полиглицериновой жирной кислоты. Определенные способы получения таких композиций описаны, например, в EP 1 125 584 A1.

[0172] Предлагаются также фармацевтические пакеты или наборы, содержащие один или несколько контейнеров, каждый из которых содержит одну или несколько доз антител к CSF1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения предлагается единичная доза, содержащая predetermined количество композиции, содержащей антитело к CSF1R, с одним или несколькими дополнительными средствами или без таковых. В некоторых вариантах осуществления изобретения такая единичная доза поставляется в виде одноразового предварительно заполненного шприца для инъекций. В различных вариантах осуществления изобретения композиция, содержащаяся в единичной дозе, может включать солевой раствор, сахарозу и т.п.; буфер, такой как фосфат и т.п.; и/или может быть приготовлен в пределах стабильного и эффективного диапазона pH. В качестве альтернативы в некоторых вариантах осуществления изобретения может предлагаться композиция в виде лиофилизованного порошка, который может быть растворен путем добавления соответствующей жидкости, например, стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция включает одно или несколько веществ, которые ингибируют агрегацию белков, в том числе (без ограничения) сахарозу и аргинин. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция по настоящему изобретению включает гепарин и/или протеогликан.

[0173] Фармацевтические композиции вводят в количестве, эффективном для лечения или профилактики специфического состояния. Терапевтически эффективное количество обычно зависит от веса лечимого субъекта, его или ее физического состояния или состояния здоровья, распространенности лечимого состояния или возраста лечимого субъекта. В целом, антитела к CSF1R могут вводиться в количестве в диапазоне примерно от 10 мкг/кг массы

тела примерно до 100 мг/кг массы тела на одну дозу. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к CSF1R могут вводиться в количестве в диапазоне примерно от 50 мкг/кг массы тела примерно до 5 мг/кг массы тела на одну дозу. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к CSF1R могут вводиться в количестве в диапазоне примерно от 100 мкг/кг массы тела примерно до 10 мг/кг массы тела на одну дозу. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к CSF1R могут вводиться в количестве в диапазоне примерно от 100 мкг/кг массы тела примерно до 20 мг/кг массы тела на одну дозу. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела к CSF1R могут вводиться в количестве в диапазоне примерно от 0,5 мг/кг массы тела примерно до 20 мг/кг массы тела на одну дозу.

[0174] Композиции с антителами к CSF1R могут вводиться в соответствии с потребностями субъектов. Частота введения может определяться специалистами в области, например, лечащим врачом, с учетом лечимого состояния, возраста лечимого субъекта, тяжести лечимого состояния, общего состояния здоровья лечимого субъекта и т.п. В некоторых вариантах осуществления изобретения эффективная доза антител к CSF1R вводится субъекту один или несколько раз. В различных вариантах осуществления изобретения эффективная доза антител к CSF1R вводится субъекту раз в месяц, реже, чем раз в месяц, например, каждые два месяца или каждые три месяца. В других вариантах осуществления изобретения эффективная доза антител к CSF1R вводится чаще, чем один раз в месяц, например, каждые две недели или каждую неделю. Эффективная доза антител к CSF1R вводится субъекту, по меньшей мере, один раз. В некоторых вариантах осуществления изобретения эффективная доза антител к CSF1R может вводиться несколько раз, в том числе, в течение периодов, равных, по меньшей мере, одному месяцу, по меньшей мере шести месяцам или по меньшей мере одному году.

Комбинационная терапия

[0175] Антитела к CSF1R могут вводиться самостоятельно или использоваться вместе с другими способами лечения. Они могут вводиться до, главным образом одновременно или после других

способов лечения, например, хирургических операций, химиотерапии, радиотерапии и введения биологических препаратов, таких как другое терапевтическое антитело. Для лечения ревматоидного артрита антитела к CSF1R могут вводиться вместе с другими терапевтическими средствами, например, метотрексатом, средствами против TNF, такими как Ремикейд, Хумира, Симпони и Энбрел; глюкокортикоидами, такими как преднизон; Лефлуномидом; Азатиоприном; ингибиторами янус-киназы, такими как CP 590690; ингибиторами SYK, такими как R788; антителами к интерлейкину 6; антителами к интерлейкину 6R; антителами к CD-20; антителами к CD19; антителами к GM-CSF; и антителами к GM-CSF-R. Для лечения рассеянного склероза антитела к CSF1R могут вводиться с другими терапевтическими средствами, например, интерфероном-альфа; интерфероном-бета; преднизолоном; антителами к интегрину альфа 4, такими как Тисабри; антителами к CD20, такими как Ритуксан; FTY720 (Финголимод); и Кладрибин (Леустатин).

ПРИМЕРЫ

[0176] Приведенные ниже примеры являются чисто иллюстративными и никоим образом не ограничивают настоящее изобретение. Приведенные примеры не претендуют на то, что описанные эксперименты являются всеми и единственными проведенными экспериментами. Были приняты меры для обеспечения точности используемых чисел (например, количеств, температуры и т.п.), но все же возможны некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иного, части являются частями по весу, молекулярный вес является средним молекулярным весом, температура выражена в градусах Цельсия, а давление равно или близко к атмосферному.

Пример 1: Выбор Fabs, связывающего внеклеточный домен CSF1R (ECD)

[0177] Мыши были иммунизированы слиянием Fc человеческого внеклеточного домена CSF1R, hCSF1R ECD.506-Fc (SEQ ID NO: 6). Были изолированы селезенки иммунизированных мышей, и из спеноцитов была создана библиотека фаговых отображений Fab. Были выбраны фаги, экспрессирующие Fab для связывания с человеческим CSF1R ECD. Fab из позитивно связывающего фага были

экспрессированы и очищены от бактерий. Для дальнейшего анализа было отобрано 1056 клонов Fab.

[0178] Fab были отсортированы по способности связывать человеческий CSF1R ECD, блокировать связывание человеческого CSF1 с человеческим CSF1R ECD и блокировать связывание человеческого IL34 с человеческим CSF1R ECD. Затем было проведено секвенирование и кластеринг Fab, которые были отобраны после сортировки, и были отобраны определенные уникальные Fab.

[0179] Уникальные Fab были подвергнуты дальнейшему анализу в отношении способности связывать человеческий CSF1R ECD, способности связывать CSF1R ECD макака-крабоеда и способности связывать мышиный CSF1R ECD. Fabs были также проанализированы в отношении способности блокировать связывание человеческого CSF1 с человеческим CSF1R ECD и способности блокировать связывание человеческого IL34 с человеческим CSF1R ECD, а также способность ингибировать индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R в присутствии CSF1 или IL34. (Данные не показаны.)

Пример 2: Переформатирование Fab к CSF1R для выработки химерных антител

[0180] После описания Fab было отобрано одиннадцать Fabs для переформатирования в химерные антитела. Каждый Fab был переформатирован в химерное антитело, включающее константную область тяжелой цепи человеческого IgG4 с мутацией S241P и человеческую константную область легкой цепи. Говоря коротко, области VH Fab были клонированы в вектор pTT5 и экспрессированы из этого вектора (Институт биотехнологических исследований, Монреаль, Канада и Национальный исследовательский совет Канады, Оттава, Канада), измененного так, что он стал включать лидерную последовательность мышинного IgH (SEQ ID NO: 4) и константную область тяжелой цепи человеческого IgG4 с мутацией S241P (SEQ ID NO: 94). Области VL Fab были клонированы в вектор pTT5 и экспрессированы из него, измененного так, что он стал включать лидерную последовательность мышинного Igk (SEQ ID NO: 3) и константную область легкой цепи человеческого Igk (SEQ ID NO: 95). Области V Fab были вставлены так, чтобы не вставлять в

конечные белки аминокислотные последовательности, полученные не из антител.

Пример 3: Экспрессия и описание химерных антител

[0181] Химерные антитела были временно экспрессированы и очищены, главным образом, как описано ниже в примере 5.

[0182] Был проведен количественный анализ 11 химерных антител на связывание с человеческим, мышинным CSF1R ECD и CSF1R ECD макака-крабоеда. Был также проведен количественный анализ химерных антител на способность блокировать связывание человеческого CSF1 с человеческим CSF1R ECD, способность блокировать связывание человеческого IL34 с человеческим CSF1R ECD, способность блокировать связывание человеческого CSF1 с CSF1R ECD макака-крабоеда и способность ингибировать индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R в присутствии CSF1 или IL34. Был также проведен количественный анализ химерных антител на связывание CSF1R на поверхности клеток. Наконец, был проведен количественный анализ химерных антител, чтобы подтвердить, что они не вызывают фосфорилирование CSF1R отсутствие лиганда. (Данные не показаны.)

Пример 4: Гуманизация антител к CSF1R

[0183] Из описанных выше анализов для гуманизации были отобраны химерные антитела к CSF1R 0301, 0302 и 0311. Антитела были гуманизированы путем изменения определенных аминокислотных остатков в каркасных участках переменных областей тяжелой и легкой цепи. Критерии, используемые для гуманизации, были ранее описаны, например, в Публикации США № US 2009/0136500.

[0184] Для сAb 0301 были спроектированы три гуманизированные переменные области тяжелой цепи и две гуманизированные переменные области легкой цепи всего для шести гуманизированных антител, Ab1-Ab6. Для сAb 0302 были спроектированы две гуманизированные переменные области тяжелой цепи и три гуманизированные переменные области легкой цепи всего для шести гуманизированных антител, Ab7-Ab12. Для сAb 0311 были спроектированы две гуманизированные переменные области тяжелой цепи и две гуманизированные переменные области легкой цепи всего для четырех гуманизированных антител,

Ab13–Ab16.

[0185] Последовательности для каждой гуманизированной переменной области тяжелой цепи и гуманизированной переменной области легкой цепи, выровненные с последовательностями переменных областей родительских химерных антител и последовательностями переменных каркасных участков человеческого акцептора, показаны на фиг.1 (тяжелые цепи) и 2 (легкие цепи). Изменения последовательностей гуманизированных переменных областей по сравнению с последовательностями переменного каркасного участка человеческого акцептора, обведены в рамку. Каждый CDR для каждой из переменных областей показан в рамке и обозначен "CDR" над обведенными в рамку последовательностями.

[0186] В таблице 8 ниже показаны полные последовательности для гуманизированных тяжелых цепей и гуманизированных легких цепей антител Ab1–Ab16. Название и SEQ ID NO гуманизированной тяжелой цепи и гуманизированной легкой цепи каждого из этих антител приведены в таблице 2.

Таблица 2

Гуманизированные тяжелые цепи и легкие цепи Ab1–Ab16

Гуманизированное антитело	Гуманизированная тяжелая цепь	SEQ ID NO	Гуманизированная легкая цепь	SEQ ID NO
Ab1	h0301-H0	53	h0301-L0	60
Ab2	h0301-H1	54	h0301-L0	60
Ab3	h0301-H2	55	h0301-L0	60
Ab4	h0301-H0	53	h0301-L1	61
Ab5	h0301-H1	54	h0301-L1	61
Ab6	h0301-H2	55	h0301-L1	61
Ab7	h0302-H1	56	h0302-L0	62
Ab8	h0302-H1	56	h0302-L1	63
Ab9	h0302-H1	56	h0302-L2	64
Ab10	h0302-H2	57	h0302-L0	62
Ab11	h0302-H2	57	h0302-L1	63
Ab12	h0302-H2	57	h0302-L2	64

Ab13	h0311-H1	58	h0311-L0	65
Ab14	h0311-H1	58	h0311-L1	66
Ab15	h0311-H2	59	h0311-L0	65
Ab16	h0311-H2	59	h0311-L1	66

Пример 5: Гуманизированные антитела к CSF1R связывают человеческий CSF1R ECD и CSF1R ECD макака-крабоеда, однако не связывают мышинный CSF1R ECD

[0187] 16 гуманизированных антител были временно экспрессированы в клетки CHO следующим образом. Клетки CHO-3E7 были сотрансфектированы отдельными экспрессионными плазмидами тяжелой и легкой цепи с соотношением масс: 1 плазида тяжелой цепи к 2 плазидам легкой цепи при помощи полиэтиленимина (PEI) с соотношением ДНК:PEI=1:5. Общее количество ДНК, использованное для трансфекции, составляло 1,5 мкг/мл клеток.

[0188] Гуманизированные антитела были очищены от надосадочной жидкости трансфектированных клеток при помощи колонок HiTrap Protein A HP (GE Healthcare), а затем дополнительно очищены с использованием колонок Phenyl HP (GE Healthcare). Надосадочная жидкость, содержащая антитела, была загружена в колонки HiTrap Protein A HP, предварительно уравновешенные при помощи фосфатно-буферного солевого раствора (PBS)/0,5M NaCl. Колонки с загруженными антителами были промыты 10 объемами колонок PBS/0,5M NaCl и элюированы смешанным линейным-ступенчатым градиентом 0,1 M глицина, pH 2,7/ 0,5 M NaCl прямо в 100 мкл 1M Трис-буфера, pH 8,0. Элюаты, содержащие антитела, были диализированы против PBS, после чего было добавлено 2,4 M (NH₄)₂SO₄ (Sigma) для достижения проводимости, равной проводимости 10 mM фосфата калия pH 7,0/1,2 M (NH₄)₂SO₄. Затем антитела были загружены в 1 мл колонки Phenyl HP (GE Healthcare), предварительно уравновешенные при помощи 10 mM фосфата калия pH 7,0/1,2 M (NH₄)₂SO₄. Колонки с загруженными антителами были промыты 15 объемами колонок 10 mM фосфата калия pH 7,0/1,2 M (NH₄)₂SO₄ и элюированы с градиентом 20 объемов колонки 10 mM фосфата калия, pH 7,0. Фракции, содержащие антитела, были сведены в пул и диализированы против PBS.

[0189] Гуманизированные антитела вместе с их родительскими химерными антителами (сAbs) были проанализированы на связывание человеческих, мышинных CSF1R ECD и CSF1R ECD макака-крабоеда следующим образом.

Связывающая способность человеческого CSF1R

[0190] Девяностошестилунковые планшеты с прозрачным дном ELISA были покрыты на ночь 1 мкг/мл рекомбинантного hCSF1R ECD.506-Fc (SEQ ID NO: 6; FivePrime Therapeutics) или Human M-CSF R Fc Chimera (R&D Systems) в фосфатно-буферном растворе (PBS). На следующее утро лунки были промыты четыре раза при помощи 0,05% Tween20 в PBS (PBST) и блокированы при помощи Blocker-Blotto (Pierce). В лунки, покрытые CSF1R, было добавлено пятьдесят микролитров 0,5 последовательных разбавлений гуманизированного антитела или родительского химерного антитела, начиная с 2000 нг/мл, разбавленных в соотношении 1:1 в Blocker-Blotto. После инкубации при комнатной температуре в течение 90 минут лунки были промыты четырежды при помощи PBST, и в каждую лунку было добавлено козье антитело к иммуноглобулину человека с легкой цепью каппа, конъюгированное пероксидазой, разбавленное в Blocker-Blotto в соотношении 1:5000. После инкубации при комнатной температуре в течение 60 минут лунки промыли четыре раза при помощи PBST, и в каждую лунку было добавлено 50 мкл субстрата пероксидазы о-фенилендиамин дигидрохлорида (Sigma). После инкубации при комнатной температуре в течение 30 минут, непосредственно на спектрофотометре SpectraMaxPlus были считаны величины A450 каждой лунки при помощи программы SoftMaxPro (Molecular Devices).

[0191] Результаты этого эксперимента показаны на фиг.3. Все гуманизированные антитела связали человеческий CSF1R ECD в проанализированном диапазоне концентраций.

Кривая связывания CSF1R макака-крабоеда

[0192] Кривая связывания для каждого гуманизированного антитела, связывающего CSF1R ECD макака-крабоеда, была определена, как описано выше для человеческого CSF1R, за исключением того, лунки планшетов ELISA с прозрачным дном были

покрыты на ночь 2 мкг/мл рекомбинантным CSF1R ECD-Fc макака-крабоеда (FivePrime Therapeutics, SEQ ID NO: 8, однако без 19 аминокислотной лидерной последовательности).

[0193] Результаты этого эксперимента показаны на фиг.4. Все гуманизированные антитела связали CSF1R ECD макака-крабоеда в проанализированном диапазоне концентраций.

Кривая связывания мышинного CSF1R

[0194] Кривая связывания для каждого гуманизированного антитела, связывающего мышинный CSF1R ECD, была определена, как описано выше для человеческого CSF1R, за исключением того, лунки планшетов ELISA с прозрачным дном были покрыты на ночь 2 мкг/мл рекомбинантным мышинным CSF1R ECD-Fc (FivePrime Therapeutics, SEQ ID NO: 93).

[0195] Результаты этого эксперимента показаны на фиг.5. Ни одно из гуманизированных антител или родительских химерных антител не связало мышинный CSF1R ECD в проанализированном диапазоне концентраций, насколько можно было обнаружить.

Расчет EC50

[0196] В таблице 3 показана величина EC50, рассчитанная с использованием алгоритма нелинейного регрессионного анализа (подбор кривой) программы GraphPad Prism (GraphPad Software) для каждого гуманизированного антитела, связывающего человеческий CSF1R ECD и CSF1R ECD макака-крабоеда. Поскольку ни одно из химерных антител, насколько можно было обнаружить, не связывает мышинный CSF1R ECD, на основании этих данных величину EC50 рассчитать нельзя. В таблице 3 также приведены рассчитанные величины EC50 для родительских химерных антител.

Таблица 3

Связывающая способность гуманизированных антител к CSF1R

Гуманизированное антитело	EC50 гуманизированного CSF1R ECD (нг/мл)	EC50 CSF1R ECD макака-крабоеда (нг/мл)
cAb 0301	11,4	15,18
h0301-L0H0	13,4	15,11
h0301-L0H1	14,23	14,39

h0301-L0H2	14,77	13,79
h0301-L1H0	13,35	11,93
h0301-L1H1	16,47	16,66
h0301-L1H2	16,23	16,59
cAb 0302	15,94	17,34
h0302-L0H1	14,64	466,5
h0302-L1H1	21,43	1058
h0302-L2H1	7,741	66,04
h0302-L0H2	17,85	154,9
h0302-L1H2	22,1	172,5
h0302-L2H2	10,15	17,96
cAb 0311	17,65	20,06
h0311-L0H1	13,12	21,65
h0311-L1H1	14,32	30,88
h0311-L0H2	11,54	17,47
h0311-L1H2	13,26	20,27

Пример 6: Гуманизированные антитела к CSF1R ингибируют индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R

[0197] CSF1R фосфорилируются в присутствии лигандов CSF1 или IL34. Гуманизированные антитела вместе с их родительскими химерными антителами (cAbs) были проанализированы на их способность ингибировать фосфорилирование CSF1R, индуцированное любым лигандом, следующим образом.

Ингибирование индуцируемого CSF1 фосфорилирования

[0198] Трансфектированные CSF1R (SEQ ID NO: 2) клетки CHO были инкубированы с последовательными разбавлениями каждого гуманизированного антитела или родительского химерного антитела, начиная с 8 мкг/мл, в течение 60 минут на льду, после чего в клетки было добавлено 3,3 нМ человеческого CSF1 (M-CSF, R&D Systems). (Для серий 0301 гуманизированных антител использовались последовательные разбавления, начиная с 2 мкг/мл гуманизированного антитела и родительского химерного антитела.) Клетки инкубировали в течение 3 минут при 37°C, а затем лизировали путем добавления 1/10 объема 10-кратного буфера для лизиса клеток (Cell Signaling Technology). Количество

фосфорилированного CSF1R в клеточных лизатах было количественно определено при помощи набора человеческого фосфо-M-CSF R ELISA (Системы R&D) согласно инструкциям производителя.

[0199] Результаты этого эксперимента показаны на фиг.6А-6С. Все гуманизированные антитела показали способность ингибировать индуцированное человеческим CSF1 фосфорилирование человеческого CSF1R ECD в проанализированном диапазоне концентраций.

Ингибирование индуцированного IL34 фосфорилирования

[0200] Трансфектированные CSF1R (SEQ ID NO: 2) клетки CHO были инкубированы с 0,002-8 мкг/мл каждого гуманизированного антитела или родительского химерного антитела в течение 60 минут на льду, после чего в клетки было добавлено 3,3 нМ человеческого IL34 (FivePrime Therapeutics; SEQ ID NO: 68). Клетки инкубировали в течение 3 минут при 37°C, а затем лизировали путем добавления 1/10 объема 10-кратного буфера для лизиса клеток (Cell Signaling Technology). Количество фосфорилированного CSF1R в клеточных лизатах было количественно определено при помощи набора человеческого phospho-M-CSF R ELISA (R&D Systems) согласно инструкциям производителя.

[0201] Результаты этого эксперимента показаны на фиг.7А-7С. Все гуманизированные антитела показали способность ингибировать индуцированное человеческим IL34 фосфорилирование человеческого CSF1R ECD в проанализированном диапазоне концентраций.

Пример 7: Гуманизированные антитела к CSF1R блокируют связывание человеческого CSF1 и человеческого IL34 с человеческим CSF1R и CSF1R макака-крабеда

Способность блокировать человеческий CSF1/CSF1R

[0202] Гуманизированные антитела вместе с их родительскими химерными антителами (сAbs) были проанализированы на способность блокировать связывание человеческого CSF1 с человеческим CSF1R ECD и CSF1R ECD макака-крабеда следующим образом.

[0203] Рекомбинантный человеческий CSF1 (M-CSF; R&D Systems) был биотинилирован при помощи набора мечения на основе

NH₂-биотина (Dojindo Molecular Technologies). Сто микролитров биотинилированного CSF1 концентрацией 1 мкг/мл в PBST/0,1% BSA было добавлено в лунки планшетов, покрытых Reacti-Bind Streptavidin (Pierce), предварительно блокированные блокирующим буфером SuperBlock (Pierce) в соответствии с инструкциями производителя. Пятьдесят мкл 0,5 последовательных разбавлений гуманизированного антитела или родительского химерного антитела, начиная с 2000 нг/мл, инкубировали с 50 нг/мл hCSF1R ECD.506-Fc (SEQ ID NO: 6; FivePrime Therapeutics) или 50 нг/мл cynoCSF1R ECD-Fc (FivePrime Therapeutics, SEQ ID NO: 8, однако без 19 аминокислотной лидерной последовательности) в 100 мкл PBST/0,1% BSA в течение 90 минут при комнатной температуре, после чего добавка переносилась в одну или несколько лунок планшета, покрытого лигандами. Через 90 минут при комнатной температуре лунки промывали при помощи PBST, и в каждую лунку добавляли разбавления в соотношении 1:5000 в PBST/0,1% BSA Fc-фрагмент-специфического конъюгированного пероксидазой козьего антитела к иммуноглобулину человека IgG (Jackson Immuno Research). После инкубации при комнатной температуре в течение 60 минут лунки промыли при помощи PBST/0,1% BSA, и в каждую лунку был добавлен субстрат пероксидазы о-фенилендиамин дигидрохлорида (Sigma). После инкубации при комнатной температуре в течение 30 минут, непосредственно на спектрофотометре SpectraMaxPlus были считаны величины A₄₅₀ каждой лунки при помощи программы SoftMaxPro (Molecular Devices).

[0204] Результаты этого эксперимента для CSF1R макака-крабоеда показаны на фиг.8А-8С. Все гуманизированные антитела на основе Fabs 0301 и 0311 показали способность блокировать связывание человеческого CSF1 с CSF1R ECD макака-крабоеда в проанализированном диапазоне концентраций. Ни одно из гуманизированных антител на основе Fab 0302 не продемонстрировало аналогичной блокирующей способности в этом эксперименте по сравнению с блокирующей способностью cAb 0302.

Способность блокировать человеческий IL34/CSF1R

[0205] Гуманизированные антитела были проанализированы на

способность блокировать связывание человеческого IL34 с человеческим CSF1R ECD. Блокирующая способность каждого гуманизированного антитела была определена, как описано выше для блокирования CSF1, за исключением того, что рекомбинантный человеческий IL34 (FivePrime Therapeutics; SEQ ID NO: 68) был биотинилирован при помощи набора мечения на основе NH₂-биотина (Dojindo Molecular Technologies), а затем 100 мкл биотинилированного рекомбинантного IL34 концентрацией 1 мкг/мл в PBST/0,1% BSA было добавлено в лунки планшетов, покрытых Reacti-Bind Streptavidin (Pierce), предварительно заблокированные блокирующим буфером SuperBlock (Pierce) в соответствии с инструкциями производителя.

[0206] Результаты этого эксперимента для CSF1R макака-крабода показаны на фиг.9А-9С. Все гуманизированные антитела на основе Fabs 0301 и 0311 показали способность блокировать связывание человеческого IL34 с CSF1R ECD макака-крабода в проанализированном диапазоне концентраций. Ни одно из гуманизированных антител на основе Fab 0302 не продемонстрировало аналогичной блокирующей способности в этом эксперименте по сравнению с блокирующей способностью cAb 0302.

Расчет IC₅₀

[0207] В таблице 4 показана величина IC₅₀, рассчитанная с использованием алгоритма нелинейного регрессионного анализа (подбор кривой) программы GraphPad Prism (GraphPad Software) для ингибирования индуцированного лигандом фосфорилирования CSF1R каждым гуманизированным антителом. В таблице 4 показана величина IC₅₀, рассчитанная с использованием алгоритма нелинейного регрессионного анализа (подбор кривой) программы GraphPad Prism (GraphPad Software) для блокирования индуцированного лигандом фосфорилирования CSF1R каждым гуманизированным антителом. В таблице 4 показана величина IC₅₀, рассчитанная с использованием алгоритма нелинейного регрессионного анализа (подбор кривой) программы GraphPad Prism (GraphPad Software) для блокирования связывания лигандом CSF1R ECD каждым гуманизированным антителом. Наконец, в таблице 4 показано количество аминокислот в каркасных участках легкой

цепи и тяжелой цепи каждого гуманизированного антитела, которые обратно мутировали в соответствующий мышиный аминокислотный остаток. Например, гуманизированное антитело h0301L1H1 имеет одну аминокислоту в каркасном участке легкой цепи, которая обратно мутировала в мышиную аминокислоту, и одну аминокислоту в каркасных участках тяжелой цепи, которая обратно мутировала в мышиную аминокислоту. Как показано на фиг.1 и 2, обратно мутировавшая аминокислота в каркасе легкой цепи находится в положении 1 в каркасе 1, а обратно мутировавшая аминокислота в тяжелой цепи в положении 71 в каркасе 3 согласно нумерации Кабата (см. фиг.1B).

Таблица 4

Блокирующая способность гуманизированных антител к CSF1R

Гуманизированное антитело	IC50 человеч. CSF1/ человеч. CSF1R ECD (нг/мл)	IC50 человеч. IL34/ человеч. CSF1R ECD (нг/мл)	IC50 человеч. CSF1/CS F1R ECD макака- крабоведа (нг/мл)	IC50 человеч. IL34/CSF1R ECD макака- крабоведа (нг/мл)	Обратно мутировавшие мышиные остатки в каркасных участках (Л+Т)
cAb0301	307,2	312,2	22,01	29,53	
h0301-L0H0	1031	433	27,64	35,92	0+0
h0301-L0H1	778,1	452,6	27,45	36,43	0+1
h0301-L0H2	1317	480,9	28,05	37,37	0+4
h0301-L1H0	6150	378	25,53	34,84	1+0
h0301-L1H1	814,2	384,4	31,07	42,41	1+1
h0301-L1H2	682,1	397,1	27,77	36,53	1+4
cAb0302	263,5	350,8	33,09	49,38	
h0302-L0H1	927,7	615	15,55	2,00E+12	0+2
h0302-L1H1	742	363,7	60,49	676,4	1+2
h0302-L2H1	384	303,1	89827	509,1	3+2
h0302-L0H2	438,2	474,2	нет	248,1	0+5
h0302-L1H2	597,8	495,3	1085	541,3	1+5
h0302-L2H2	354,4	240,1	837,6	278,7	3+5
cAb 0311	577	994,2	43,47	52,1	
h0311-L0H1	291,3	343,2	32,47	50,4	0+2

h0311-L1H1	507,5	667,4	24,68	53,69	2+2
h0311-L0H2	435,5	633,3	25,96	40,79	0+5
h0311-L1H2	419	578,2	30,76	48,56	2+5

Пример 8: Константы связывания гуманизированных антител к CSF1R

[0208] Константы k_a , k_d и K_D связывания человеческого CSF1R ECD были определены для каждого гуманизированного антитела следующим образом.

[0209] Кинетика связывания гуманизированных антител к CSF1R ECD была определена с использованием поверхностного плазмонного резонанса Biacore T100 (SPR) (GE Healthcare Life Sciences, Пискатавей, Нью-Йорк). Каждое из гуманизированных антител к CSF1R было захвачено на сенсорном чипе CM5, иммобилизованном антителом к человеческому IgG при помощи набора для захвата человеческих антител (GE Healthcare Life Sciences, Пискатавей, Нью-Йорк) при 150RU, так что величина R_{max} для связывания hCSF1R ECD.506 (SEQ ID NO: 5) составляла 100RU. Величины R_{max} ниже 150RU рекомендуются для точного определения кинетических величин. В качестве подвижного буфера и буфера разбавления использовался буферный солевой раствор 10 мМ Hepes, pH 7,4, с 0,05% Tween20 (HPS-P; GE Healthcare Life Sciences, Пискатавей, Нью-Йорк). hCSF1R ECD.506 инжестировался в шести концентрациях (90 нМ, 30 нМ, 10 нМ, 3,33 нМ, 1,11 нМ и 0 нМ) в течение 2 минут, и в течение 5 минут наблюдалась диссоциация для определения кинетических параметров связывания гуманизированного антитела/hCSF1R ECD. При помощи программного пакета оценки Biacore T100 с использованием модели связывания 1:1 была рассчитана константа ассоциации, константа диссоциации, аффинность и связывающая способность каждого Fabs к человеческому CSF1R ECD.

[0210] Результаты определения кинетических параметров приведены в таблице 5.

Способность гуманизированных антител связывать человеческий CSF1R

huAbAb	k_a ($M^{-1}c^{-1}$)	K_d (c^{-1})	K_D (нМ)
huAb 0301-L0H0	$3,22 \times 10^6$	$1,11 \times 10^{-03}$	0,35
huAb 0301-L0H1	$3,56 \times 10^6$	$1,22 \times 10^{-03}$	0,34
huAb 0301-L0H2	$2,32 \times 10^6$	$6,60 \times 10^{-04}$	0,28
huAb 0301-L1H0	$3,29 \times 10^6$	$1,15 \times 10^{-03}$	0,35
huAb 0301-L1H1	$2,87 \times 10^6$	$9,21 \times 10^{-04}$	0,32
huAb 0301-L1H2	$2,95 \times 10^6$	$7,42 \times 10^{-04}$	0,25
huAb 0302-L0H1	$3,54 \times 10^6$	$3,69 \times 10^{-03}$	1,04
huAb 0302-L1H1	$3,47 \times 10^6$	$4,04 \times 10^{-03}$	1,17
huAb 0302-L2H1	$1,60 \times 10^6$	$9,14 \times 10^{-04}$	0,57
huAb 0302-L0H2	$3,40 \times 10^6$	$1,79 \times 10^{-03}$	0,53
huAb 0302-L1H2	$2,71 \times 10^6$	$1,53 \times 10^{-03}$	0,56
huAb 0302-L2H2	$1,84 \times 10^6$	$8,40 \times 10^{-04}$	0,46
huAb 0311-L0H1	$1,22 \times 10^6$	$5,40 \times 10^{-04}$	0,44
huAb 0311-L1H1	$1,32 \times 10^6$	$6,64 \times 10^{-04}$	0,50
huAb 0311-L0H2	$1,34 \times 10^6$	$4,73 \times 10^{-04}$	0,35
huAb 0311-L1H2	$1,51 \times 10^6$	$6,09 \times 10^{-04}$	0,40

[0211] Все, кроме двух гуманизированных антител, продемонстрировали субнаномолярную связывающую способность к человеческому CSF1R ECD, а остальные два гуманизированные антитела продемонстрировали связывающую способность к человеческому CSF1R ECD меньше 2 нМ.

Пример 9: Гуманизированные антитела к CSF1R блокируют индуцируемое лигандами фосфорилирование

[0212] Исходя из приведенных выше данных, в том числе связывания CSF1R, ингибирования лигандами и вероятности иммуногенности для каждого гуманизированного антитела, для дальнейшего исследования были отобраны три гуманизированных антитела: 0301-L0H0, 0301-L1H0 и 0311-L0H1.

[0213] После подтверждения того, что 0301-L0H0, 0301-L1H0 и 0311-L0H1 связываются с CSF1R на поверхности клеток (данные не показаны), каждое из антител было исследовано на способность блокировать индуцируемое лигандами фосфорилирование CSF1R в клетках CHO, как описано в примере 6.

[0214] Результаты этого эксперимента показаны на фиг.10. Все три исследованные гуманизированных антитела блокировали индуцируемое CSF1 (A), так и индуцируемое IL34 (B) фосфорилирование CSF1R в клетках CHO. В таблице 6 показана величина IC50 для блокирования индуцируемого лигандами фосфорилирования CSF1R для каждого антитела.

Таблица 6

Блокирование индуцируемого лигандами фосфорилирования IC50 для гуманизированных антител

Гуманизированное антитело	IC50 CSF1-блокирования (нг/мл)	IC50 IL34-блокирования (нг/мл)
0301-L0H0	305,4	340,8
0301-L1H0	213,2	242,2
0311-L0H1	127,2	337,6

Пример 10: Гуманизированные антитела к CSF1R блокируют индуцируемую лигандами пролиферацию /реакции выживания основных человеческих моноцитов

[0215] Гуманизированные антитела 0301-L0H0, 0301-L1H0 и 0311-L0H1 были проанализированы на способность блокировать индуцируемую лигандами пролиферацию/реакции выживания моноцитов следующим образом.

[0216] Мононуклеары человеческой периферической крови были изолированы из крови здорового донора путем центрифугирования на подушке фиколл-пак (GE Healthcare Bio-Sciences) в соответствии с инструкциями производителя. Затем моноциты периферической крови были изолированы из восстановленной фракции мононуклеаров периферической крови путем центрифугирования на подушке 48,5% Percoll™ (GE Healthcare Bio-Sciences). После восстановления из подушки Percoll™ очищенные моноциты периферической крови были подвергнуты стимуляции 162

pM рекомбинантного человеческого CSF1 или 1,6 нМ рекомбинантного человеческого IL34 (оба производства R&D Systems) в присутствии или при отсутствии последовательных разбавлений гуманизированного антитела 0301-L0H0, гуманизированного антитела 0301-L1H0 или гуманизированного антитела 0311-L0H1. После инкубации при 37°C в течение 48 часов при помощи реактива CellTiter-Glo® (Promega) было оценено относительное клеточное содержание АТФ каждой отдельной культуры в соответствии с инструкциями производителя. В этом количественном анализе относительное клеточное содержание АТФ было прямо пропорционально количеству живых клеток в культуре, а, следовательно, отражает пролиферацию/реакции выживания моноцитов.

[0217] Результаты этого эксперимента показаны на фиг.11. Все три исследованные гуманизированные антитела показали способность блокировать пролиферацию/реакции выживания моноцитов после стимуляции CSF1 (А) или IL34 (В). В таблице 7 показаны величины IC50 для блокировки индуцируемой лигандами пролиферации/реакции выживания моноцитов для каждого антитела. Показанные в таблице 7 величины представляют собой диапазон, наблюдаемый от трех различных основных исследованных доноров.

Таблица 7

IC50 блокирования пролиферации/выживания моноцитов для гуманизированных антител

Гуманизированное антитело	IC50 CSF1-блокировки (нг/мл)	IC50 IL34-блокировки (нг/мл)
0301-L0H0	31,9-77,5	12,2-29,9
0301-L1H0	19,0-71,9	10,5-30,6
0311-L0H1	75,9-134,8	26,9-152,2

Пример 11: Гуманизированные антитела к CSF1R прямо не стимулируют пролиферацию или реакции выживания основных человеческих моноцитов

[0218] Гуманизированные антитела 0301-L0H0, 0301-L1H0 и 0311-L0H1 были исследованы на их способность прямо стимулировать пролиферацию и/или выживание основных моноцитов

следующим образом.

[0219] Моноциты человеческой периферической крови были изолированы, как описано в примере 10. К моноцитам были добавлены последовательные разбавления гуманизированного антитела 0301-L0H0, гуманизированного антитела 0301-L1H0 или гуманизированного антитела 0311-L0H1 при отсутствии стимуляции экзогенного CSF1 или экзогенного IL34. После инкубации при 37°C в течение 48 часов при помощи реактива CellTiter-Glo® (Promega) было оценено относительное клеточное содержание АТФ каждой отдельной культуры, как описано в примере 10. Этот эксперимент был проведен на моноцитах периферической крови от трех различных доноров.

[0220] Результаты этого эксперимента показаны на фиг.12. Ни одно из гуманизированных антител не стимулировало пролиферацию или выживание основных моноцитов в исследованных препаратах основных моноцитов.

ТАБЛИЦА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0221] В таблице 8 приведены некоторые рассмотренные в настоящем описании последовательности. Все последовательности полипептидов и антител sequences показаны без лидерных последовательностей, если не указано иного.

Таблица 8

Последовательности и описания

SEQ ID NO	Описание	Последовательность			
1	hCSF1R (непро- цессиро- ванный, без лидерной последо- ватель- ности)	IPVIEPSVPE	LVVKPGATVT	LRCVNGSVE	WDGPPSPHWT
		LYSDGSSSIL	STNNATFQNT	GTYRCTEPGD	PLGGSAAIHL
		YVKDPAWPWN	VLAQEVVFE	DQDALLPCLL	TDPVLEAGVS
		LVRVRGRPLM	RHTNYSFSPW	HGFTIHRAKF	IQSQDYQCSA
		LMGGRKVMSI	SIRLKVQKVI	PGPPALTLVP	AELVRIRGEA
		AQIVCSASSV	DVNFDVFLQH	NNTKLAIPQQ	SDFHNNRYQK
		VLTLNLDQVD	FQHAGNYSCV	ASNVQGKHST	SMFFRVVESA
		YLNLSSEQNL	IQEVTVGEGL	NLKVMVEAYP	GLQGFNWTYL
		GPFSHQPEP	KLANATTKDT	YRHTFTLSLP	RLKPSEAGRY
		SFLARNPGGW	RALTFELTLR	YPPEVSVIWT	FINGSGTLLC
		AASGYQPQNV	TWLQCSGHTD	RCDEAQVLQV	WDDPYPEVLS
QEPFHKVTVQ	SLLTVETLEH	NQTYECRAHN	SVGSGSWAFI		
PISAGANTHP	PDEFLEFTPVV	VACMSIMALL	LLLLLLLLLYK		

		YKQKPKYQVR NNLQFGKTLG STAHADKEEA LVITEYCCYG KNIHLEKKYV QDLDKEDGRP AARNVLLTNG KWMAPESIFD LVNSKFYKLV RPTFQQICSF SELEEESSSE	WKIIESYEGN AGAFGKVVEA LMSELKIMSH DLNFLRRKA RRDSGFSSQG LELRDLLHFS HVAKIGDFGL CVYTVQSDVW KDGYPMAQPA LQEQAQEDRR HLTCCEQGGDI	SYTFIDPTQL TAFGLGKEDA LGQHENIVNL EAMLGPSLSP VDYVEMRPV SQVAQGMFL ARDIMNDSNY SYGILLWEIF FAPKNIYSIM ERDYTNLPSS AQPLLQPNNY	PYNEKWEFPR VLKVAVKMLK LGACTHGGPV GQDPEGGVYD STSSNDSFSE ASKNCIHRDV IVKGNARLPV SLGLNPYPGI QACWALEPTH SRSGGSGSSS QFC
2	hCSF1R (непро- цессиро- ванный, + лидерная последо- ватель- ность)	MGPVLLLLL RCVGNGSVEW TYRCTEPGDP QDALLPCLLT GFTIHRAKFI GPPALTLVPA NTKLAI PQQS SNVQGHST LKVMVEAYPG RHTFTLSLPR PPEVSVIWF CDEAQLQVW QTYECRAHNS ACMSIMALLL YTFIDPTQLP AFGLGKEDAV GQHENIVNLL AMLGPSLSPG DTYVEMRPVS QVAQGMFLA RDIMNDSNYI YGILLWEIFS APKNIYSIMQ RDYTNLPSSS QPLLQPNNYQ	VATAWHGQGI DGPPSPHWTL LGGSAAIHLY DPVLEAGVSL QSQDYQCSAL ELVRIRGEAA DFHNNRYQKV MFFRVVESAY LQGFNWTYLG LKPSEAGRYS INGSGTLLCA DDPYPEVLSQ VSGSWAFIP LLLLLLLLLYKY YNEKWEFPRN LKVAVKMLKS GACTHGGPVL QDPEGGVYDK SKNCIHRDVA VKGNARLPVK LGLNPYPGIL ACWALEPTHR RSGGSGSSSS FC	PVIEPSVPEL YSDGSSSILS VKD PARPWNV VRVRGRPLMR MGGRKVMSSIS QIVCSASSVD LTLNLDQVDF LNLSSSQNLI PFS DHQPEPK FLARNPGGWR ASGYPQPNVT EPFHKVTVQS ISAGAHTHP KQKPKYQVRW NLQFGKTLGA TAHADEKEAL VITEYCCYGD NIHLEKKYVR ARNVLLTNGH WMAPE SIFDC VNSKFYKLVK PTFQQICSF ELEEESSSEH	VVKPGATVTL TNNATFQNTG LAQEVVVFED HTNYSFSPWH IRLKVQKVIP VNFDFVLQHN QHAGNYSCVA QEVTVGEGLN LANATTKDTY ALTFELTRY WLQCSGHTDR LLTVETLEHN DEFLETPVVV DEFLFTPVVV KIIESYEGNS GAFGKVVEAT MSELKIMSHL LLNFLRRKAE RDSGFSSQGV ELRDL LHFS VAKIGDFGLA VYTVQSDVWS DGYQMAQPAF QEQAQEDRRE LTCCEQGDIA
5	hCSF1R ECD.506	IPVIEPSVPE LYSDGSSSIL YVKD PARPWN LVRVRGRPLM LMGGRKVMSS AQIVCSASSV VLTNLNDQVD YLNLSSEQNL	LVVKPGATVT STNNATFQNT VLAQEVVVF RHTNYSFSPW SIRLKVQKVI DVNFDFVLQH FQHAGNYSCV IQEVTVGEGL	LRCVGNGSVE GTYRCTEPGD DQDALLPCLL HGFTIHRAKF PGPPALTLVP NNTKLAI PQQ ASNVQGHST NLKVMVEAYP	WDGPPSPHWT PLGGSAIHL TDPVLEAGVS IQSQDYQCSA AELVRIRGEA SDFHNNRYQK SMFFRVVESA GLQGFNWTYL

		GPFSDHQPEP SFLARNPGGW AASGYQPQNV QEPFHKVTVQ PISAGAH	KLANATTKDT RALTFELTLR TWLQCSGHTD SLLTVETLEH	YRHTFTLSLP YPPEVSVIWT RCDEAQVLQV NQTYECRAHN	RLKPSEAGRY FINGSGTLLC WDDPYPEVLS SVGSGSWAFI
6	hCSF1R ECD.506- Fc	IPVIEPSVPE LYSDGSSSIL YVKDPARPWN LVRVRGRPLM LMGGRKVMCI AQIVCSASSV VLTLNLDQVD YLNLSSEQNL GPFSDHQPEP SFLARNPGGW AASGYQPQNV QEPFHKVTVQ PISAGAHEPK DTLMISRTPE TKPREEQYNS PAPIEKTISK VKGFYPSDIA KLTVDKSRWQ	LVVKPGATVT STNNATFQNT VLAQEVVVE RHTNYSFSPW SIRLKVQKVI DVNFDVFLQH FQHAGNYSCV IQEVTVGEGL KLANATTKDT RALTFELTLR TWLQCSGHTD SLLTVETLEH SSDKTHTCPP VTCVVVDVSH TYRVVSVLTV AKGQPREPQV VEWESNGQPE QGNVFSCSVM	LRCVGNCSVE GTyrCTEPGD DQDALLPCLL HGFTIHRAKF PGPPALTLVP NNTKLAIPOQ ASNVOGKHST NLKVMVEAYP YRHTFTLSLP YPPEVSVIWT RCDEAQVLQV NQTYECRAHN CPAPPELLGGP EDPEVKFNWY LHQDWLNGKE YTLPPSRDEL NNYKTTPPVL	WDGPPSPHWT PLGGSAAIHL TDPVLEAGVS IQSQDYQCSA AELVRIERGEA SDFHNNRYQK SMFFRVVESA GLQGFNWTYL RLKPSEAGRY FINGSGTLLC WDDPYPEVLS SVGSGSWAFI SVFLFPKPK VDGVEVHNAK YKCKVSNKAL TKNQVSLTCL DSDGSFFLYS KSLSLSPGK
7	cynoCSF1R ECD (с лидерной последо- ватель- ностью)	MGPVLLLLLL RCVGNCSVEW TYRCTEPGDP QDALLPCLLT GFTIHRAKFI GPPALTLVPA TTKLAI PQRS SNVQGKHSTS LKVMVEAYPG RHTFTLSLPR PPEVSVIWT CDEAQVLQVW QTYECRAHNS	VVTAWHGQGI DGPISPHWTL LGGSAAIHLY DPVLEAGVSL QGQDYQCSAL ELVRIERGEAA DFHDNRYQKV MFFRVVESAY LQGFNWTYLG LKPSEAGRYS INGSGTLLCA VDPHPEVLSQ VGSGSWAFIP	PVIEPSGPEL YSDGPSSVLT VKDPARPWNV VRLRGRPLLR MGSRKVMSIS QIVCSASNID LTLSLGQVDF LDLSSEQNLI PFS DHQPEPK FLARNPGGWR ASGYQPQNV EPFQKVTVQS	VVKPGETVTL TTNATFQNTR LAKEVVVFED HTNYSFSPWH IRLKVQKVIP VDFDVFLQHN QHAGNYSCVA QEVTVGEGLN LANATTKDITY ALTFELTLRY WLQCAGHTDR LLTAETLEHN ISAGAR
8	cynoCSF1R ECD-Fc (с лидерной последо- ватель- ностью)	MGPVLLLLLL RCVGNCSVEW TYRCTEPGDP QDALLPCLLT GFTIHRAKFI GPPALTLVPA TTKLAI PQRS	VVTAWHGQGI DGPISPHWTL LGGSAAIHLY DPVLEAGVSL QGQDYQCSAL ELVRIERGEAA DFHDNRYQKV	PVIEPSGPEL YSDGPSSVLT VKDPARPWNV VRLRGRPLLR MGSRKVMSIS QIVCSASNID LTLSLGQVDF	VVKPGETVTL TTNATFQNTR LAKEVVVFED HTNYSFSPWH IRLKVQKVIP VDFDVFLQHN QHAGNYSCVA

		SNVQGKHSTS MFFRVVESAY LDLSSEQNLI QEVTVGEGLN LKVMVEAYPG LQGFNWTYLG PFSDHQPEPK LANATTKDITY RHTFTLSLPR LKPSEAGRYS FLARNPGGWR ALTFELTLRY PPEVSVIWTS INSGTLLCA ASGYQPNTV WLQCAGHTDR CDEAQVLQVW VDPHPEVLSQ EPFQKVTVQS LLTAETLEHN QTYECRAHNS VGSGSWAFIP ISAGARGSEP KSSDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFCSSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
3	Лидерная последовательность легкой цепи	METDTLLLWV LLLWVPGSTG
4	Лидерная последовательность тяжелой цепи	MAVLGLLLCL VTFPSCVLS
9	Вариантная область тяжелой цепи Fab 0301	EVQLQQSGPE LVRPGASVKM SCKASGYTFT DNYMIWVKQS HGKSLEWIGD INPYNGGTF NQKFKGKATL TVEKSSSTAY MQLNSLTSED SAVYYCARES PYFSNLYVMD YWGQGTSVTV SS
10	Вариантная область легкой цепи Fab 0301	NIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSVD YDGDNYMNWY QQKPGQPPKL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEEDAATY YCHLSNEDLS TFGGGTKLEI K
11	Вариантная область тяжелой цепи Fab 0302	EIQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFS DFNHWWVKQK PGQGLEWIGY INPYTDVTYVY NEKFKGKATL TSDRSSSTAY MDLSSLTSED SAVYYCASYF DGTFDYALDY WGQGTSITVS S

12	Вариан- бельная область легкой цепи Fab 0302	DVVVTQTPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVD NYGLSFMNWF QQKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGGG SRTDFTLTID PVEADDAATY FCQQSKELPW TFGGGTRLEI K
13	Вариан- бельная область тяжелой цепи Fab 0311	EIQLQQSGPD LMKPGASVKM SCKASGYIFT DYNMHWVKQN QGKSLEWMGE INPNNGVVVY NQKFKGTTTL TVDKSSSTAY MDLHSLTSED SAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGKGTTLTV SS
14	Вариан- бельная область легкой цепи Fab 0311	DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCKASQSVD YDGD SHMNWY QQKPGQPPKL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGADFTLTIH PVEEEDAATY YCQQGNEDPW TFGGGTRLEI K
15	0301 тяжелоце- почечный CDR1	GYTF TDNYMI
16	0301 тяжелоце- почечный CDR2	DINPYNGGTT FNQKFKG
17	0301 тяжелоце- почечный CDR3	ESPYFSNLYV MDY
18	0301 легкоце- почечный CDR1	KASQSVDYDG DNYMN
19	0301 легкоце- почечный CDR2	AASNLES
20	0301 легкоце- почечный CDR3	HLSNEDLST

21	0302 тяжелоце- почечный CDR1	GYTFSDFNH
22	0302 тяжелоце- почечный CDR2	YINPYTDVTV YNEKFKG
23	0302 тяжелоце- почечный CDR3	YFDGTFDYAL DY
24	0302 легкоце- почечный CDR1	RASESVDNYG LSFMN
25	0302 легкоце- почечный CDR2	TASNLES
26	0302 легкоце- почечный CDR3	QQSKELPWT
27	0311 тяжелоце- почечный CDR1	GYIFTDYNMH
28	0311 тяжелоце- почечный CDR2	EINPNNGVVV YNQKFKG
29	0311 тяжелоце- почечный CDR3	ALYHSNFGWY FDS
30	0311 легкоце- почечный CDR1	KASQSVDYDG DSHMN
31	0311 легкоце- почечный CDR2	TASNLES

32	0311 легкоце- почечный CDR3	QQGNEDPWT			
33	сAb 0301 тяжелая цепь	EVQLQQSGPE HGKSLEWIGD MQLNSLTSED SSASTKGPSV VSWNSGALTS KTYTCNVDHK SVFLFPPKPK VDGVEVHNAK YKCKVSNKGL TKNQVSLTCL DSDGSFFLYS KSLSLSLGK	LVRPGASVKM INPYNGGTTF SAVYYCARES FPLAPCSRST GVHTFPAVLQ PSNTKVDKRV DTLMISRTPE TKPREEQFNS PSSIEKTISK VKGFPSPDIA RLTVDKSRWQ	SCKASGYTFT NQKFKGKATL PYFSNLYVMD SESTAALGCL SSGLYSLSSV ESKYGPPCPP VTCVVVDVSQ TYRVVSVLTV AKGQPPEPQV VEWESNGQPE EGNVFSCSVM	DNYMIWVKQS TVEKSSSTAY YWGQTSVTV VKDYFPEPVT VTVPSSSLGT CPAPEFLGGP EDPEVQFNWY LHQDWLNGKE YTLPPSQEEM NNYKTTPPVL HEALHNHYTQ
34	сAb 0301 легкая цепь	NIVLTQSPAS QQKPGQPPKL PVEEEDAATY IFPPSDEQLK GNSQESVTEQ THQGLSSPVT	LAVSLGQRAT LIYAASNLES YCHLSNEDLS SGTASVCLL DSKDSTYSL	ISCKASQSVD GIPARFSGSG TFGGGTKLEI NNFYPREAKV STLTLSKADY	YDGDNYMNWY SGTDFTLNIH KRTVAAPSVF QWKVDNALQS EKHKVYACEV
35	сAb 0302 тяжелая цепь	EIQLQQSGPE PGQGLEWIGY MDLSSLTSED SASTKGPSVF SWNSGALTSG TYTCNVDHKP VFLFPPKPKD DGVEVHNAKT KCKVSNKGLP KNQVSLTCLV SDGSFFLYSR SLSLSLGK	LVKPGASVKM INPYTDVTYV SAVYYCASYF PLAPCSRSTS VHTFPAVLQS SNTKVDKRV TLMISRTPEV KPREEQFNST SSIEKTISKA KGFYPSDIAV LTVDKSRWQE	SCKASGYTFS NEKFKGKATL DGTFDYALDY ESTAALGCLV SGLYSLSSVV SKYGPPCPPC TCVVVDVSQE YRVVSVLTVL KGQPREPQVY EWESNGQPEN GNVFSCSVMH	DFNIHWVKQK TSDRSSSTAY WGQGTSITVS KDYFPEPVTV TVPSSSLGTK PAPEFLGGPS DPEVQFNWYV HQDWLNGKEY TLPPSQEEMT NYKTTPPVLD EALHNHYTQK
36	сAb 0302 легкая цепь	DVVVTQTPAS QQKPGQPPKL PVEADDAATY IFPPSDEQLK GNSQESVTEQ THQGLSSPVT	LAVSLGQRAT LIYTASNLES FCQQSKELPW SGTASVCLL DSKDSTYSL	ISCRASESVD GIPARFSGGG TFGGGTRLEI NNFYPREAKV STLTLSKADY	NYGLSFMNWF SRTDFTLTID KRTVAAPSVF QWKVDNALQS EKHKVYACEV
37	сAb 0311 тяжелая цепь	EIQLQQSGPD QGKSLEWMGE MDLHSLTSED SSASTKGPSV	LMKPGASVKM INPNNGVVVY SAVYYCTRAL FPLAPCSRST	SCKASGYIFT NQKFKGTTTL YHSNFGWYFD SESTAALGCL	DYNMHWVKQN TVDKSSSTAY SWGKGTTLTV VKDYFPEPVT

		VSWNSGALTS KTYTCNVDPHK SVFLFPPKPK VDGVEVHNAK YKCKVSNKGL TKNQVSLTCL DSDGSFFLYS KSLSLSLGK	GVHTFPAVLQ PSNTKVDKRV DTLMISRTPK TKPREEQFNS PSSIEKTISK VKGFYPSDIA RLTVDKSRWQ	SSGLYSLSSV ESKYGPPCPP VTCVVVDVSQ TYRVVSVLTV AKGQPREPQV VEWESNGQPE EGNVFSCSVM	VTVPSSSLGT CPAPEFLGGP EDPEVQFNWY LHQDWLNGKE YTLPPSQEEM NNYKTTTPVL HEALHNHYTQ
38	сAb 0311 легкая цепь	DIVLTQSPAS QQKPGQPPKL PVEEEDAATY IFPPSDEQLK GNSQESVTEQ THQGLSSPVT	LAVSLGQRAT LIYTASNLES YCQQGNEDPW SGTASVCLL DSKDYSTYLS KSFNRGEC	ISCKASQSVD GIPARFSGSG TFGGGTRLEI NNFYPREAKV STLTLSKADY	YDGDShMNWY SGADFTLTIH KRTVAAPSVF QWKVDNALQS EKHKVYACEV
39	h0301-H0 вариан- бельная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE PGQGLEWMD MELSSLRSED	VKKPGSSVKV INPYNGGTTF TAVYYCARES	SCKASGYTFT NQKFKGRVTI PYFSNLYVMD	DNYMIWVRQA TADKSTSTAY YWGQGLVTV SS
40	h0301-H1 вариан- бельная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE PGQGLEWMD MELSSLRSED	VKKPGSSVKV INPYNGGTTF TAVYYCARES	SCKASGYTFT NQKFKGRVTI PYFSNLYVMD	DNYMIWVRQA TVDKSTSTAY YWGQGLVTV SS
41	h0301-H2 вариан- бельная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE PGQGLEWIGD MELSSLRSED	VKKPGSSVKV INPYNGGTTF TAVYYCARES	SCKASGYTFT NQKFKGRATL PYFSNLYVMD	DNYMIWVRQA TVDKSTSTAY YWGQGLVTV SS
42	H0302-H1 вариан- бельная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE PGQGLEWMDY MELSSLRSED	VKKPGSSVKV INPYTDVTY TAVYYCASYF	SCKASGYTFS NEKFKGRVTI DGTFDYALDY	DFNIHWVRQA TSDKSTSTAY WGQGLVTVS S
43	H0302-H2 вариан- бельная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE PGQGLEWIGY MELSSLRSED	VKKPGSSVKV INPYTDVTY TAVYYCASYF	SCKASGYTFS NEKFKGRATL DGTFDYALDY	DFNIHWVRQA TSDKSTSTAY WGQGLVTVS S

44	H0311-H1 вариан- бельная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT DYNMHWVRQA PGQGLEWMGE INPNNGVVVY NQKFKGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGQGTLVTV SS
45	H0311-H2 вариан- бельная область тяжелой цепи	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT DYNMHWVRQA PGQGLEWMGE INPNNGVVVY NQKFKGTTTL TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCTRAL YHSNFGWYFD SWGQGTLVTV SS
46	h0301-L0 вариан- бельная область легкой цепи	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSVD YDGDNYMNWY QQKPGQAPRL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCHLSNEDLS TFGGGTKVEI K
47	h0301-L1 вариан- бельная область легкой цепи	NIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCKASQSVD YDGDNYMNWY QQKPGQAPRL LIYAASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCHLSNEDLS TFGGGTKVEI K
48	H0302-L0 вариан- бельная область легкой цепи	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGLSFMNWY QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCQQSKELPW TFGQGTKVEI K
49	H0302-L1 вариан- бельная область легкой цепи	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGLSFMNWY QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SRTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCQQSKELPW TFGQGTKVEI K
50	H0302-L2 вариан- бельная область легкой цепи	EIVVTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGLSFMNWF QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SRTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCQQSKELPW TFGQGTKVEI K

51	H0311-L0 вариан- бельная область легкой цепи	EIVLTQSPAT QQKPGQAPRL SLEPEDFAVY	LSLSPGERAT LIYTASNLES YCQQGNEDPW	LCKASQSVD GIPARFSGSG TFGQGTKVEI	YDGD SHMNWY SGTDFTLTIS K
52	H0311-L1 вариан- бельная область легкой цепи	DIVLTQSPAT QQKPGQAPRL SLEPEDFAVY	LSLSPGERAT LIYTASNLES YCQQGNEDPW	LCKASQSVD GIPARFSGSG TFGQGTKVEI	YDGD SHMNWY SGADFTLTIS K
53	h0301-H0 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE PGQGLEWMD MELSSLRSED SSASTKGPSV VSWNSGALTS KTYTCNV DHK SVFLFPPKPK VDGVEVHNAK YKCKVSNKGL TKNQVSLTCL DSDGSFFLYS KSLSLSLGK	VKKPGSSVKV INPYNGGTF TAVYYCARES FPLAPCSRST GVHTFPAVLQ PSNTKVDKRV DTLMISRTPE TKPREEQFNS PSSIEKTISK VKGFYPSDIA RLTVDKSRWQ	SCKASGYTFT NQKFKGRVTI PYFSNLYVMD SESTAALGCL SSGLYSLSSV ESKYGPPCPP VTCVVVDVSQ TYRVVSVLTV AKGQPREPQV VEWESNGQPE EGNVFSCSVM	DNYMIWVRQA TADKSTSTAY YWGQGLT LTV VKDYFPEPVT VTVPSSSLGT CPAPEFLGGP EDPEVQFNWY LHQDWLNGKE YTLPPSQEEM NNYKTTPPVL HEALHNHYTQ
54	h0301-H1 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE PGQGLEWMD MELSSLRSED SSASTKGPSV VSWNSGALTS KTYTCNV DHK SVFLFPPKPK VDGVEVHNAK YKCKVSNKGL TKNQVSLTCL DSDGSFFLYS KSLSLSLGK	VKKPGSSVKV INPYNGGTF TAVYYCARES FPLAPCSRST GVHTFPAVLQ PSNTKVDKRV DTLMISRTPE TKPREEQFNS PSSIEKTISK VKGFYPSDIA RLTVDKSRWQ	SCKASGYTFT NQKFKGRVTI PYFSNLYVMD SESTAALGCL SSGLYSLSSV ESKYGPPCPP VTCVVVDVSQ TYRVVSVLTV AKGQPREPQV VEWESNGQPE EGNVFSCSVM	DNYMIWVRQA TVDKSTSTAY YWGQGLT LTV VKDYFPEPVT VTVPSSSLGT CPAPEFLGGP EDPEVQFNWY LHQDWLNGKE YTLPPSQEEM NNYKTTPPVL HEALHNHYTQ
55	h0301-H2 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE PGQGLEWIGD MELSSLRSED SSASTKGPSV VSWNSGALTS KTYTCNV DHK SVFLFPPKPK VDGVEVHNAK	VKKPGSSVKV INPYNGGTF TAVYYCARES FPLAPCSRST GVHTFPAVLQ PSNTKVDKRV DTLMISRTPE TKPREEQFNS	SCKASGYTFT NQKFKGRATL PYFSNLYVMD SESTAALGCL SSGLYSLSSV ESKYGPPCPP VTCVVVDVSQ TYRVVSVLTV	DNYMIWVRQA TVDKSTSTAY YWGQGLT LTV VKDYFPEPVT VTVPSSSLGT CPAPEFLGGP EDPEVQFNWY LHQDWLNGKE

		YKCKVSNKGL TKNQVSLTCL DSDGSFFLYS KSLSLSLGK	PSSIEKTISK VKGFYPSDIA RLTVDKSRWQ	AKGQPREPQV VEWESNGQPE EGNVFSCSVM	YTLPPSQEEM NNYKTTPPVL HEALHNHYTQ
56	H0302-H1 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE PGQGLEWMGY MELSSLRSED SASTKGPSVF SWNSGALTSG TYTCNVDHKP VFLFPPKPKD DGVEVHNAKT KCKVSNKGLP KNQVSLTCLV SDGSFFLYSR SLSLSLGK	VKKPGSSVKV INPYTDVTYV TAVYYCASYF PLAPCSRSTS VHTFPAVLQS SNTKVDKRVE TLMISRTPEV KPREEQFNST SSIEKTISKA KGFYPSDIAV LTVDKSRWQE	SCKASGYTFS NEKFKGRVTI DGTFDYALDY ESTAALGCLV SGLYSLSSVV SKYGPPCPPC TCVVVDVSQE YRVVSVLTVL KGQPREPQVY EWESNGQPEN GNVFSCSVMH	DFNIHWVRQA TSDKSTSTAY WGQGLVTVS KDYFPEPVTV TVPSSSLGTK PAPEFLGGPS DPEVQFNWYV HQDWLNGKEY TLPPSQEEMT NYKTTPPVLD EALHNHYTQK
57	H0302-H2 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE PGQGLEWIGY MELSSLRSED SASTKGPSVF SWNSGALTSG TYTCNVDHKP VFLFPPKPKD DGVEVHNAKT KCKVSNKGLP KNQVSLTCLV SDGSFFLYSR SLSLSLGK	VKKPGSSVKV INPYTDVTYV TAVYYCASYF PLAPCSRSTS VHTFPAVLQS SNTKVDKRVE TLMISRTPEV KPREEQFNST SSIEKTISKA KGFYPSDIAV LTVDKSRWQE	SCKASGYTFS NEKFKGRATL DGTFDYALDY ESTAALGCLV SGLYSLSSVV SKYGPPCPPC TCVVVDVSQE YRVVSVLTVL KGQPREPQVY EWESNGQPEN GNVFSCSVMH	DFNIHWVRQA TSDKSTSTAY WGQGLVTVS KDYFPEPVTV TVPSSSLGTK PAPEFLGGPS DPEVQFNWYV HQDWLNGKEY TLPPSQEEMT NYKTTPPVLD EALHNHYTQK
58	H0311-H1 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE PGQGLEWMGE MELSSLRSED SSASTKGPSV VSWNSGALTS KTYTCNVDHK SVFLFPPKPK VDGVEVHNAK YKCKVSNKGL TKNQVSLTCL DSDGSFFLYS KSLSLSLGK	VKKPGSSVKV INPNNGVVVY TAVYYCTRAL FPLAPCSRST GVHTFPAVLQ PSNTKVDKRV DTLMISRTPE TKPREEQFNS PSSIEKTISK VKGFYPSDIA RLTVDKSRWQ	SCKASGYIFT NQKFKGRVTI YHSNFGWYFD SESTAALGCL SSGLYSLSSV ESKYGPPCPP VTCVVVDVSQ TYRVVSVLTV AKGQPREPQV VEWESNGQPE EGNVFSCSVM	DYNMHWVRQA TVDKSTSTAY SWGQGLVTV VKDYFPEPVT VTVPSSSLGT CPAPEFLGGP EDPEVQFNWY LHQDWLNGKE YTLPPSQEEM NNYKTTPPVL HEALHNHYTQ
59	H0311-H2 тяжелая цепь	QVQLVQSGAE PGQGLEWMGE MELSSLRSED SSASTKGPSV	VKKPGSSVKV INPNNGVVVY TAVYYCTRAL FPLAPCSRST	SCKASGYIFT NQKFKGTTTL YHSNFGWYFD SESTAALGCL	DYNMHWVRQA TVDKSTSTAY SWGQGLVTV VKDYFPEPVT

		VSWNSGALTS KTYTCNVDPHK SVFLFPPKPK VDGVEVHNAK YKCKVSNKGL TKNQVSLTCL DSDGSFFLYS KSLSLSLGK	GVHTFPAVLQ PSNTKVDKRV DTLMISRTPK TKPREEQFNS PSSIEKTISK VKGFYPSDIA RLTVDKSRWQ	SSGLYSLSSV ESKYGPPCPP VTCVVVDVSQ TYRVVSVLTV AKGQPREPQV VEWESNGQPE EGNVFSCSVM	VTVPSSSLGT CPAPEFLGGP EDPEVQFNWY LHQDWLNGKE YTLPPSQEEM NNYKTTTPVL HEALHNHYTQ
60	h0301-L0 легкая цепь	EIVLTQSPAT QQKPGQAPRL SLEPEDFAVY IFPPSDEQLK GNSQESVTEQ THQGLSSPVT	LSLSPGERAT LIYAASNLES YCHLSNEDLS SGTASVCLL DSKDSTYSL KSFNRGEC	LSCKASQSVD GIPARFSGSG TFGGGTKVEI NNFYPREAKV STLTLSKADY	YDGDNYMNWY SGTDFTLTIS KRTVAAPSVF QWKVDNALQS EKHKVYACEV
61	h0301-L1 легкая цепь	NIVLTQSPAT QQKPGQAPRL SLEPEDFAVY IFPPSDEQLK GNSQESVTEQ THQGLSSPVT	LSLSPGERAT LIYAASNLES YCHLSNEDLS SGTASVCLL DSKDSTYSL KSFNRGEC	LSCKASQSVD GIPARFSGSG TFGGGTKVEI NNFYPREAKV STLTLSKADY	YDGDNYMNWY SGTDFTLTIS KRTVAAPSVF QWKVDNALQS EKHKVYACEV
62	H0302-L0 легкая цепь	EIVLTQSPAT QQKPGQAPRL SLEPEDFAVY IFPPSDEQLK GNSQESVTEQ THQGLSSPVT	LSLSPGERAT LIYTASNLES YCQQSKELPW SGTASVCLL DSKDSTYSL KSFNRGEC	LSCRASESVD GIPARFSGSG TFGQGTKVEI NNFYPREAKV STLTLSKADY	NYGLSFMNWF SGTDFTLTIS KRTVAAPSVF QWKVDNALQS EKHKVYACEV
63	H0302-L1 легкая цепь	EIVLTQSPAT QQKPGQAPRL SLEPEDFAVY IFPPSDEQLK GNSQESVTEQ THQGLSSPVT	LSLSPGERAT LIYTASNLES YCQQSKELPW SGTASVCLL DSKDSTYSL KSFNRGEC	LSCRASESVD GIPARFSGSG TFGQGTKVEI NNFYPREAKV STLTLSKADY	NYGLSFMNWF SRTDFTLTIS KRTVAAPSVF QWKVDNALQS EKHKVYACEV
64	H0302-L2 легкая цепь	EIVVTQSPAT QQKPGQAPRL SLEPEDFAVY IFPPSDEQLK GNSQESVTEQ THQGLSSPVT	LSLSPGERAT LIYTASNLES YCQQSKELPW SGTASVCLL DSKDSTYSL KSFNRGEC	LSCRASESVD GIPARFSGSG TFGQGTKVEI NNFYPREAKV STLTLSKADY	NYGLSFMNWF SRTDFTLTIS KRTVAAPSVF QWKVDNALQS EKHKVYACEV
65	H0311-L0 легкая цепь	EIVLTQSPAT QQKPGQAPRL SLEPEDFAVY IFPPSDEQLK GNSQESVTEQ THQGLSSPVT	LSLSPGERAT LIYTASNLES YCQQGNEDPW SGTASVCLL DSKDSTYSL KSFNRGEC	LSCKASQSVD GIPARFSGSG TFGQGTKVEI NNFYPREAKV STLTLSKADY	YDGDNYMNWY SGTDFTLTIS KRTVAAPSVF QWKVDNALQS EKHKVYACEV

66	H0311-L1 легкая цепь	DIVLTQSPAT LSLSPGERAT LCKASQSV YDGD SHMNWY QQKPGQAPRL LIYTASNLES GIPARFSGSG SGADFTLTIS SLEPEDFAVY YCQQGNEDPW TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVCLL NNFYPREKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYLS STLTLKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
67	Челове- ческий CSF1	EEVSEYCSHM IGSGLQSLQ RLIDSQMET S CQITFEFVDQ EQLKDPVCYL KKAFLLVQDI MEDTMRFRDN TPNAIAIVQL QELSLRLKSC FTKDYEEHDK ACVRTFYETP LQLEKVKNV FNETKNLLDK DWNIFSKNCN NSFAECSSQG HERQSEGS
68	Челове- ческий IL34	NEPLEMWPLT QNEECTVTGF LRDKLQYRSR LQYMKHYFPI NYKISVPYEG VFRIANVTRL QRAQVSEREL RYLWVLVSLSATSVQDVLL EGHPSWKYLQ EVQTLNLLNVQ QGLTDVEVSP KVESVLSLLN APGPNLKLVR PKALLDNCFR VMELLYCSCC KQSSVLNWQD CEVPSPQSCS PEPSLQYAAT QLYPPPPWSP SSPPHSTGSV RVPRAQGEGL LP
69	Челове- ческий акцептор A FR1	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS
70	Челове- ческий акцептор A FR2	WVRQAPGQGL EWMG
71	Челове- ческий акцептор A FR3	RVTITADKST STAYMELSSL RSED TAVYYC AR
72	Челове- ческий акцептор A FR4	WGQGLTVTS S
73	Челове- ческий акцептор B FR1	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS
74	Челове- ческий акцептор B FR2	WVRQAPGQGL EWMG
75	Челове- ческий акцептор B FR3	RVTITADKST STAYMELSSL RSED TAVYYC AR

76	Челове- ческий акцептор B FR4	WGQGTTLVTVSS
77	Челове- ческий акцептор C FR1	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKAS
78	Челове- ческий акцептор C FR2	WVRQAPGQGL EWMG
79	Челове- ческий акцептор C FR3	RVTITADKST STAYMELSSL RSEDVAVYYC AR
80	Челове- ческий акцептор C FR4	WGQGTTLVTVS S
81	Челове- ческий акцептор D FR1	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC
82	Челове- ческий акцептор D FR2	WYQQKPGQAP RLLIY
83	Челове- ческий акцептор D FR3	GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YC
84	Челове- ческий акцептор D FR4	FGGGTKVEIK
85	Челове- ческий акцептор E FR1	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC
86	Челове- ческий акцептор E FR2	WYQQKPGQAP RLLIY

87	Челове- ческий акцептор E FR3	GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YC
88	Челове- ческий акцептор E FR4	FGQGTKVEIK
89	Челове- ческий акцептор F FR1	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC
90	Челове- ческий акцептор F FR2	WYQQKPGQAP RLLIY
91	Челове- ческий акцептор F FR3	GIPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YC
92	Челове- ческий акцептор F FR4	FGQGTKVEIK
93	mCSF1R ECD-Fc	APVIEPSGPE LVVEPGETVT LRCVSNGSVE WDGPISPYWT LDPESPGSTL TTRNATFKNT GTYRCTELED PMAGSTTIHL YVKDPAHSWN LLAQEVTVVE GQEAVLPCLI TDPALKDSVS LMREGGRQVL RKTVYFFSPW RGFIIRKAKV LDSNTYVCKT MVNGRESTST GIWLKVN RVH PEPPQIKLEP SKLVIRIGEA AQIVCSATNA EVGFNVILKR GDTKLEIPLN SDFQDNYYKK VRALSLNAVD FQDAGIYSCV ASNDVGTRTA TMNFQVVESA YLNLTSEQSL LQEVSVGDSL ILTVHADAYP SIQHYNWTYL GPF FEDQRKL EFITQRAIYR YTFKFLN RV KASEAGQYFL MAQNKAGWNN LTFELTLRYP PEVSVTWMPV NGSDVLFCDV SGYPQPSVTW MECRGHTDRC DEAQALQVWN DTHPEVLSQK PFDKVIIQSQ LPIGTLKHN M TYFCKTHNSV GNSSQYFRAV SLGQSKQEPK SSDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK DTLMISR TPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK

94	Челове- ческий IgG4 S241P	ASTKGPSVFP	LAPCSRSTSE	STAALGCLVK	DYFPEPVTVS
		WNSGALTSGV	HTFPAVLQSS	GLYSLSSVVT	VPSSSLGTKT
		YTCNVDPKPS	NTKVDKRVES	KYGPPCPPCP	APEFLGGPSV
		FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSDQED	PEVQFNWYVD
		GVEVHNAKTK	PREEQFNSTY	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK
		CKVSNKGLPS	SIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSQEEMTK
		NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	WESNGQPENN	YKTTTPVLDS
		DGSFFLYSRL	TVDKSRWQEG	NVFSCSVMHE	ALHNHYTQKS
		LSLSLGK			
95	Челове- ческий Igк	RTVAAPSVFI	FPPSDEQLKS	GTASVCLLN	NFYPREAKVQ
		WKVDNALQSG	NSQESVTEQD	SKDSTYSLSS	TLTLSKADYE
		KHKVYACEVT	HQGLSSPVTK	SFNRGEC	

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Изолированное антитело, включающее тяжелую и легкую цепи, при этом тяжелая цепь содержит последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45, а антитело связывает рецептор колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R).

2. Антитело по п.1, отличающееся тем, что тяжелая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

3. Антитело по п.1, отличающееся тем, что тяжелая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

4. Антитело по п.1, отличающееся тем, что тяжелая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

5. Антитело по п.1, отличающееся тем, что тяжелая цепь включает последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

6. Антитело по любому из пп.1-5, отличающееся тем, что легкая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

7. Антитело по любому из пп.1-5, отличающееся тем, что легкая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

8. Антитело по любому из пп.1-5, отличающееся тем, что легкая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

9. Антитело по любому из пп.1-5, отличающееся тем, что легкая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID

NO: 10, 12, 14 и 46-52.

10. Антитело по любому из пп.1-5, отличающееся тем, что легкая цепь включает последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

11. Изолированное антитело, включающее тяжелую и легкую цепи, при этом легкая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52, и антитело связывает рецептор 1 колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R).

12. Антитело по п.11, отличающееся тем, что легкая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

13. Антитело по п.11, отличающееся тем, что легкая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

14. Антитело по п.11, отличающееся тем, что легкая цепь включает последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

15. Антитело по п.11, отличающееся тем, что легкая цепь включает последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

16. Изолированное антитело, включающее тяжелую и легкую цепи, при этом тяжелая цепь включает: (i) тяжелоцепочечный (HC) CDR1, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 15, 21 и 27; (ii) HC CDR2, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 16, 22 и 28; и (iii) HC CDR3, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17, 23 и 29, причем антитело связывает CSF1R.

17. Антитело по п.16, отличающееся тем, что HC CDR1, HC CDR2 и HC CDR3 включают набор последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 15, 16 и 17; (b) SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и (c) SEQ ID NO: 27, 28 и 29.

18. Антитело по п.16 или п.17, отличающееся тем, что

легкая цепь включает (i) легкоцепочечный (LC) CDR1, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 18, 24 и 30; (ii) LC CDR2, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 19, 25 и 31; и (iii) LC CDR3, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20, 26 и 32.

19. Антитело по п.18, отличающееся тем, что LC CDR1, LC CDR2 и LC CDR3 включают набор последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 18, 19 и 20; (b) SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и (c) SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

20. Изолированное антитело, включающее тяжелую цепь и легкую цепь, при этом легкая цепь включает: (i) легкоцепочечный (LC) CDR1, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 18, 24 и 30; (ii) LC CDR2, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 19, 25 и 31; и (iii) LC CDR3, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20, 26 и 32; и причем антитело связывает CSF1R.

21. Антитело по п.20, отличающееся тем, что LC CDR1, LC CDR2 и LC CDR3 включают набор последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 18, 19 и 20; (b) SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и (c) SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

22. Изолированное антитело, включающее тяжелую цепь и легкую цепь, при этом антитело включает:

(a) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 10;

(b) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 12;

(c) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 14;

(d) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 39, и легкую цепь,

включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 48;

(n) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 43, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 49;

(o) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 43, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 50;

(p) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 44, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 51;

(q) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 44, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 52;

(r) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 45, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 51; или

(s) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 45, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 52.

23. Изолированное антитело, включающее тяжелую и легкую цепи, при этом антитело включает:

(a) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 10;

(b) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 12;

(l) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 42, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 50;

(m) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 43, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 48;

(n) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 43, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 49;

(o) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 43, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 50;

(p) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 44, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 51;

(q) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 44, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 52;

(r) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 45, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 51; или

(s) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 45, и легкую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 97% идентична SEQ ID NO: 52.

24. Изолированное антитело, включающее тяжелую и легкую цепи, при этом антитело включает:

(a) тяжелую цепь, включающую последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична SEQ ID NO: 9, и легкую цепь,

включающую последовательность, которая по меньшей мере на 99% идентична SEQ ID NO: 52.

25. Изолированное антитело, включающее тяжелую и легкую цепи, при этом антитело включает:

(a) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 10;

(b) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 12;

(c) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 13, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 14;

(d) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 39, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 46;

(e) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 40, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 46;

(f) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 41, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 46;

(g) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 39, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 47;

(h) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 40, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 47;

(i) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 41, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 47;

и

(j) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 42, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 48;

(k) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 42, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 49;

(l) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 42, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 50;

(m) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 43, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 48;

(n) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 43, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 49;

(o) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 43, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 50;

(p) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO:

44, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 51;

(q) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 44, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 52;

(r) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 45, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 51; или

(s) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 45, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 52.

26. Изолированное антитело, включающее тяжелую и легкую цепи, при этом антитело включает:

(a) тяжелую цепь, включающую тяжелоцепочечный (HC), определяющий комплементарность участок CDR1, имеющий последовательность SEQ ID NO: 15, HC CDR2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 16 и HC CDR3, имеющий последовательность SEQ ID NO: 17, и легкую цепь, включающую легкоцепочечный (LC), определяющий комплементарность участок CDR1, имеющий последовательность SEQ ID NO: 18, LC CDR2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 19 и LC CDR3, имеющий последовательность SEQ ID NO: 20;

(b) тяжелую цепь, включающую тяжелоцепочечный (HC), определяющий комплементарность участок CDR1, имеющий последовательность SEQ ID NO: 21, HC CDR2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 22 и HC CDR3, имеющий последовательность SEQ ID NO: 23, и легкую цепь, включающую легкоцепочечный (LC), определяющий комплементарность участок CDR1, имеющий последовательность SEQ ID NO: 24, LC CDR2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 25 и LC CDR3, имеющий последовательность SEQ ID NO: 26; или

(c) тяжелую цепь, включающую тяжелоцепочечный (HC), определяющий комплементарность участок CDR1, имеющий последовательность SEQ ID NO: 27, HC CDR2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 28 и HC CDR3, имеющий последовательность SEQ ID NO: 29, и легкую цепь, включающую легкоцепочечный (LC), определяющий комплементарность участок CDR1, имеющий последовательность SEQ ID NO: 30, LC CDR2, имеющий последовательность SEQ ID NO: 31 и LC CDR3, имеющий

последовательность SEQ ID NO: 32.

27. Изолированное антитело, включающее тяжелую и легкую цепи, при этом антитело включает:

(a) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 60;

(b) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 61; или

(c) тяжелую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 58, и легкую цепь, включающую последовательность SEQ ID NO: 65.

28. Изолированное антитело, включающее тяжелую и легкую цепи, при этом антитело включает:

(a) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 60;

(b) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 53, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 61; или

(c) тяжелую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 58, и легкую цепь, состоящую из последовательности SEQ ID NO: 65.

29. Антитело по любому из пп.1-28, отличающееся тем, что связывает человеческий CSF1R.

30. Антитело по любому из пп.1-29, отличающееся тем, что связывает CSF1R макака-крабоеда.

31. Антитело по любому из пп.1-30, отличающееся тем, что антитело блокирует лиганд, связывающий CSF1R.

32. Антитело по любому из пп.1-31, отличающееся тем, что антитело блокирует CSF1, связывающий CSF1R.

33. Антитело по любому из пп.1-32, отличающееся тем, что антитело блокирует IL34, связывающий CSF1R.

34. Антитело по любому из пп.1-33, отличающееся тем, что антитело ингибирует индуцируемое лигандом фосфорилирование CSF1R.

35. Антитело по любому из пп.1-34, отличающееся тем, что антитело ингибирует индуцируемое CSF1 фосфорилирование CSF1R.

36. Антитело по любому из пп.1-35, отличающееся тем, что антитело ингибирует индуцируемое IL34 фосфорилирование CSF1R.

37. Антитело по любому из пп.1-36, отличающееся тем, что является химерным антителом.

38. Антитело по любому из пп.1-36, отличающееся тем, что является гуманизированным антителом.

39. Антитело по любому из пп.1-38, отличающееся тем, что выбирается из Fab, Fv, scFv, Fab' и (Fab')₂.

40. Антитело по любому из пп.1-38, отличающееся тем, что выбирается из IgA, IgG и IgD.

41. Антитело по п.40, отличающееся тем, что антителом является IgG.

42. Антитело по п.41, отличающееся тем, что антителом является IgG4.

43. Антитело по п.42, отличающееся тем, что включает мутацию S241P, по меньшей мере, в одной константной области тяжелой цепи IgG4.

44. Антитело по любому из пп.1-43, отличающееся тем, что связывает человеческий CSF1R с аффинностью (K_D) меньше 1 нМ.

45. Антитело по любому из пп.1-44, отличающееся тем, что ингибирует пролиферацию и/или реакции выживания моноцитов в присутствии CSF1 или IL34.

46. Фармацевтическая композиция, включающая антитело по любому из пп.1-45.

47. Изолированная нуклеиновая кислота, включающая полинуклеотидную последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

48. Нуклеиновая кислота по п.47, отличающаяся тем, что аминокислотная последовательность, по меньшей мере, на 95% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

49. Нуклеиновая кислота по п.47, отличающаяся тем, что аминокислотная последовательность, по меньшей мере, на 97% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

50. Нуклеиновая кислота по п.47, отличающаяся тем, что аминокислотная последовательность, по меньшей мере, на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

51. Нуклеиновая кислота по п.47, отличающаяся тем, что аминокислотная последовательность выбрана из SEQ ID NO: 9, 11, 13 и 39-45.

52. Нуклеиновая кислота по любому из пп.45-51, отличающаяся тем, что нуклеиновая кислота дополнительно включает полинуклеотидную последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

53. Нуклеиновая кислота по п.52, отличающаяся тем, что аминокислотная последовательность, по меньшей мере, на 95% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

54. Нуклеиновая кислота по п.52, отличающаяся тем, что аминокислотная последовательность, по меньшей мере, на 97% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

55. Нуклеиновая кислота по п.52, отличающаяся тем, что аминокислотная последовательность, по меньшей мере, на 99% идентична последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

56. Нуклеиновая кислота по п.52, отличающаяся тем, что аминокислотная последовательность выбирается из SEQ ID NO: 10, 12, 14 и 46-52.

57. Изолированная нуклеиновая кислота, включающая полинуклеотидную последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности, выбранной из 10, 12, 14 и 46-52.

58. Нуклеиновая кислота по п.57, отличающаяся тем, что аминокислотная последовательность, по меньшей мере, на 95% идентична последовательности, выбранной из 10, 12, 14 и 46-52.

59. Нуклеиновая кислота по п.57, отличающаяся тем, что

аминокислотная последовательность, по меньшей мере, на 97% идентична последовательности, выбранной из 10, 12, 14 и 46-52.

60. Нуклеиновая кислота по п.57, отличающаяся тем, что аминокислотная последовательность, по меньшей мере, на 99% идентична последовательности, выбранной из 10, 12, 14 и 46-52.

61. Нуклеиновая кислота по п.57, отличающаяся тем, что аминокислотная последовательность выбирается из 10, 12, 14 и 46-52.

62. Композиция, включающая первую нуклеиновую кислоту и вторую нуклеиновую кислоту, при этом первая нуклеиновая кислота выбирается из нуклеиновых кислот по пп.47-51, а вторая нуклеиновая кислота выбирается из нуклеиновых кислот по пп.57-61.

63. Изолированная нуклеиновая кислота, включающая полинуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь, при этом тяжелая цепь включает: (i) тяжелоцепочечный (HC) CDR1, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 15, 21 и 27; (ii) HC CDR2, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 16, 22 и 28; и (iii) HC CDR3, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17, 23 и 29.

64. Нуклеиновая кислота по п.63, отличающаяся тем, что HC CDR1, HC CDR2 и HC CDR3 включают набор последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 15, 16 и 17; (b) SEQ ID NO: 21, 22 и 23; и (c) SEQ ID NO: 27, 28 и 29.

65. Нуклеиновая кислота по п.63 или п.64, отличающаяся тем, что нуклеиновая кислота дополнительно включает полинуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь, при этом легкая цепь включает (i) легкоцепочечный (LC) CDR1, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 18, 24 и 30; (ii) LC CDR2, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 19, 25 и 31; и (iii) LC CDR3, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20, 26 и 32.

66. Нуклеиновая кислота по п.65, отличающаяся тем, что LC CDR1, LC CDR2 и LC CDR3 включают набор последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 18, 19 и 20; (b) SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и (c) SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

67. Изолированная нуклеиновая кислота, включающая полинуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь, включающую: (i) легкоцепочечный (LC) CDR1, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 18, 24 и 30; (ii) LC CDR2, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 19, 25 и 31; и (iii) LC CDR3, имеющий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20, 26 и 32.

68. Нуклеиновая кислота по п.67, отличающаяся тем, что LC CDR1, LC CDR2 и LC CDR3 включают набор последовательностей, выбранных из: (a) SEQ ID NO: 18, 19 и 20; (b) SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и (c) SEQ ID NO: 30, 31 и 32.

69. Композиция, включающая первую и вторую нуклеиновые кислоты, при этом первая нуклеиновая кислота выбрана из нуклеиновых кислот по пп.63 и 64, а вторая нуклеиновая кислота выбрана из нуклеиновых кислот по пп.67 и 68.

70. Изолированная нуклеиновая кислота, включающая первую и вторую нуклеотидные последовательности, при этом первая полинуклеотидная последовательность и вторая полинуклеотидная последовательность кодируют соответственно тяжелую и легкую цепи антитела по любому из пп.22-28.

71. Композиция, включающая первую и вторую нуклеиновые кислоты, при этом первая нуклеиновая кислота включает первую полинуклеотидную последовательность, а вторая нуклеиновая кислота включает вторую полинуклеотидную последовательность, причем первая и вторая полинуклеотидные последовательности кодируют соответственно тяжелую и легкую цепи антитела по любому из пп.22-28.

72. Клетка-хозяин, включающая нуклеиновую кислоту по любому из пп.47-61, 63-68 и 70.

73. Клетка-хозяин, включающая композицию по п.60 или п.69, или п.71.

74. Клетка-хозяин по п.72 или п.73, отличающаяся тем, что клеткой-хозяином является эукариотическая клетка-хозяин.

75. Клетка-хозяин по п.74, отличающаяся тем, что клеткой-хозяином является клетка-хозяин млекопитающего.

76. Клетка-хозяин по п.75, отличающаяся тем, что клетка-

хозяйин выбрана из клетки CHO, клетки 293, клетки NSO и клетки PER.C6.

77. Клетка-хозяйин по п.76, отличающаяся тем, что является клеткой 293-6E или клеткой DG44.

78. Способ лечения рассеянного склероза, включающий введение пациенту фармацевтической композиции по п.46.

79. Способ лечения ревматоидного артрита, включающий введение пациенту фармацевтической композиции по п.46.

80. Способ лечения остеолитического разрежения кости, включающий введение пациенту фармацевтической композиции по п.46.

81. Способ по п.80, отличающийся тем, что остеолитическим разрежением кости может быть остеопороз, индуцированное метастазой остеолитическое разрежение кости и индуцированное ревматоидным артритом разрежение кости.

82. Способ лечения рака, включающий введение пациенту фармацевтической композиции по п.46.

83. Способ по п.82, отличающееся тем, что рак выбран из группы, включающей может быть рак груди, рак простаты, эндометриальный рак, рак мочевого пузыря, рак почек, рак пищевода, плоскоклеточная карцинома, увеальная меланома, фолликулярная лимфома, почечно-клеточный рак, рак шейки матки, рак яичников, рак легких, колоректальный рак, рак мозга, рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, рак печени, лейкемия, лимфома, болезнь Ходжкина, множественная миелома, меланома, астроцитомы, рак желудка и аденокарцинома легких.

По доверенности

A

антитело ID	легкие/тяжелые цепи	альт. CDRH1																																											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	
cAb0301 человеческий акцептор A	родительский	E	V	Q	L	V	Q	S	G	F	E	L	V	E	F	G	A	S	V	K	M	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q	
	Ab1	h0301-L0H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab2	h0301-L0H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab3	h0301-L0H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab4	h0301-L1H0	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab5	h0301-L1H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab6	h0301-L1H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
cAb0302 человеческий акцептор B	родительский	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q	
	Ab7	h0302-L0H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab8	h0302-L1H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab9	h0302-L0H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab10	h0302-L0H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab11	h0302-L1H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab12	h0302-L2H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
cAb 0311 человеческий акцептор C	родительский	E	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q	
	Ab13	h0311-L0H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab14	h0311-L1H1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab15	h0311-L0H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q
	Ab16	h0311-L1H2	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	F	G	S	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	D	N	Y	M	I	W	V	R	Q	A	F	G	Q

1/16

Фиг. 1

190556

В

антителoID	легкие/тяжелые цепи	CD4H2																																							
		45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82		
сAb0301	родительский	S	L	E	W	I	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	K	T	F	N	Q	K	F	K	G	K	A	T	L	T	V	E	R	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
	{человеческий акцептор A	G	L	E	W	M	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	K	G	R	V	T	I	T	A	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
Ab1	h0301-L0H0	S	L	E	W	M	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	K	G	R	V	Y	I	T	A	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
Ab2	h0301-L0H1	S	L	E	W	M	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	K	G	R	V	T	I	T	V	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
Ab3	h0301-L0H2	S	L	E	W	I	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	K	G	R	A	T	L	T	V	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
Ab4	h0301-L1H0	S	L	E	W	M	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	K	G	R	V	T	I	T	A	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
Ab5	h0301-L1H1	S	L	E	W	M	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	K	G	R	V	T	I	T	V	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
Ab6	h0301-L1H2	S	L	E	W	I	G	D	I	N	P	Y	N	G	G	T	T	F	N	Q	K	F	K	G	R	A	T	L	T	V	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
сAb0302	родительский	G	L	E	W	I	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	K	G	K	A	T	L	T	S	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
	{человеческий акцептор B	G	L	E	W	M	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	K	G	R	V	T	I	T	A	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
Ab7	h0302-L0H1	G	L	E	W	M	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	K	G	R	V	T	I	T	S	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
Ab8	h0302-L0H2	G	L	E	W	M	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	K	G	R	V	T	I	T	S	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
Ab9	h0302-L2H1	G	L	E	W	M	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	K	G	R	V	Y	I	T	S	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
Ab10	h0302-L0H2	G	L	E	W	I	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	K	G	R	A	T	L	T	S	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
Ab11	h0302-L1H2	G	L	E	W	I	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	K	G	R	A	T	L	T	S	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
Ab12	h0302-L2H2	G	L	E	W	I	G	Y	I	N	P	Y	T	D	V	T	V	Y	N	E	K	F	K	G	R	A	T	L	T	S	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L
сAb 0311	родительский	S	L	E	W	M	G	E	I	N	P	N	N	G	V	V	Y	N	Q	K	F	K	G	T	F	T	L	T	V	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	L	
	{человеческий акцептор C	G	L	E	W	M	G	E	I	N	P	N	N	G	V	V	Y	N	Q	K	F	K	G	R	V	T	I	T	A	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	L	
Ab13	h0311-L0H1	S	L	E	W	M	G	E	I	N	P	N	N	G	V	V	Y	N	Q	K	F	K	G	R	V	T	I	T	V	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L	
Ab14	h0311-L1H1	S	L	E	W	M	G	E	I	N	P	N	N	G	V	V	Y	N	Q	K	F	K	G	R	V	T	I	T	V	D	E	S	T	S	T	A	Y	M	E	L	
Ab15	h0311-L0H2	S	L	E	W	M	G	E	I	N	P	N	N	G	V	V	Y	N	Q	K	F	K	G	I	T	T	L	T	V	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	L	
Ab16	h0311-L1H2	S	L	E	W	M	G	E	I	N	P	N	N	G	V	V	Y	N	Q	K	F	K	G	I	T	T	L	T	V	D	K	S	T	S	T	A	Y	M	E	L	

Фиг. 1 (продолжение)

антитело ID	легкие/тяжелые цепи	CDRH3																							SEQ ID NO																
		87A	87B	82B	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	100a	100b		100c	100d	100e	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113
CAb0301	родительский	H	S	L	T	S	E	D	S	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	9
	человеческий акцептор: A	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	69-72
Ab1	h0301-L0H0	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	19
Ab2	h0301-L0H1	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	40
Ab3	h0301-L0H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	41
Ab4	h0301-L1H0	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	39
Ab5	h0301-L1H1	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	40
Ab6	h0301-L1H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	Y	F	S	N	L	Y	V	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	41
CAb0302	родительский	S	S	L	T	S	E	D	S	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	S	I	T	V	S	S	11	
	человеческий акцептор: B	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	Y	F	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	73-76	
Ab7	h0302-L0H1	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	42	
Ab8	h0302-L1H1	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	42	
Ab9	h0302-L2H1	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	42	
Ab10	h0302-L0H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	43	
Ab11	h0302-L1H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	43	
Ab12	h0302-L2H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	S	Y	F	D	G	T	F	D	Y	A	L	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	43	
CAb 0311	родительский	H	S	L	T	S	E	D	S	A	V	Y	Y	C	T	R	A	L	Y	H	S	N	F	G	W	Y	F	D	S	W	G	K	G	T	T	L	T	V	S	S	13
	человеческий акцептор: C	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	A	L	Y	H	S	N	F	G	W	Y	F	D	S	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	77-80
Ab13	h0311-L0H1	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	A	L	Y	H	S	N	F	G	W	Y	F	D	S	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	44
Ab14	h0311-L1H1	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	A	L	Y	H	S	N	F	G	W	Y	F	D	S	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	44
Ab15	h0311-L0H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	A	L	Y	H	S	N	F	G	W	Y	F	D	S	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	45
Ab16	h0311-L1H2	S	S	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	A	L	Y	H	S	N	F	G	W	Y	F	D	S	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	45

Фиг. 1 (продолжение)

A

антигено ID	легкие/тяжелые цепи																								CDRL1														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34				
сAb0301	родительский	N	I	V	L	T	Q	S	P	A	S	L	A	V	S	L	G	Q	R	A	T	I	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
	{человеческий акцептор: D	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
Ab1	h0301-LGH0	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
Ab2	h0301-LGH1	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
Ab3	h0301-LGH2	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
Ab4	h0301-LGH0	N	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
Ab5	h0301-LGH1	N	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
Ab6	h0301-LGH2	N	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	N	Y	M	N
сAb0302	родительский	E	V	V	V	T	Q	T	P	A	S	L	A	V	S	L	G	Q	K	A	T	I	S	C	R	A	S	E	S	V	D	N	Y	G	L	S	F	M	N
	{человеческий акцептор: E	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	R	A	S	E	S	V	D	N	Y	G	L	S	F	M	N
Ab7	h0302-LGH1	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	R	A	S	E	S	V	D	N	Y	G	L	S	F	M	N
Ab8	h0302-LGH1	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	R	A	S	E	S	V	D	N	Y	G	L	S	F	M	N
Ab9	h0302-LGH1	E	I	V	V	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	R	A	S	E	S	V	D	N	Y	G	L	S	F	M	N
Ab10	h0302-LGH2	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	R	A	S	E	S	V	D	N	Y	G	L	S	F	M	N
Ab11	h0302-LGH2	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	R	A	S	E	S	V	D	N	Y	G	L	S	F	M	N
Ab12	h0302-LGH2	E	I	V	V	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	R	A	S	E	S	V	D	N	Y	G	L	S	F	M	N
сAb 0311	родительский	D	I	V	L	T	Q	S	P	A	S	L	A	V	S	L	G	Q	R	A	T	I	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	S	H	M	N
	{человеческий акцептор: P	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	S	H	M	N
Ab13	h0311-LGH1	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	S	H	M	N
Ab14	h0311-LGH1	D	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	S	H	M	N
Ab15	h0311-LGH2	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	S	H	M	N
Ab16	h0311-LGH2	E	I	V	L	T	Q	S	P	A	T	L	S	L	S	P	G	E	R	A	T	L	S	C	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	S	H	M	N

4/16

Фиг. 2

B

антитело	ID	легкие/тяжелые цепи	CDRI.2																																			
			25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40																				
cAb0301	родительский	человеческий акцептор	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	P	P	K	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
			W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
	Ab1	h0301-L0H0	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
	Ab2	h0301-L0H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
	Ab3	h0301-L0H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
	Ab4	h0301-L1H0	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
	Ab5	h0301-L1H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
Ab6	h0301-L1H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	A	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	
cAb0302	родительский	человеческий акцептор	W	F	Q	Q	K	P	G	Q	P	P	K	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	R	T	D
			W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
	Ab7	h0302-L0H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
	Ab8	h0302-L1H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	R	T	D
	Ab9	h0302-L2H1	W	F	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	R	T	D
	Ab10	h0302-L0H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
	Ab11	h0302-L1H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	R	T	D
Ab12	h0302-L2H2	W	F	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	R	T	D	
cAb 0311	родительский	человеческий акцептор	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	P	P	K	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	A	D
			W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
	Ab13	h0311-L0H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
	Ab14	h0311-L1H1	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	A	D
	Ab15	h0311-L0H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D
	Ab16	h0311-L1H2	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	T	A	S	N	L	E	S	G	I	P	A	R	F	S	G	S	G	S	G	A	D

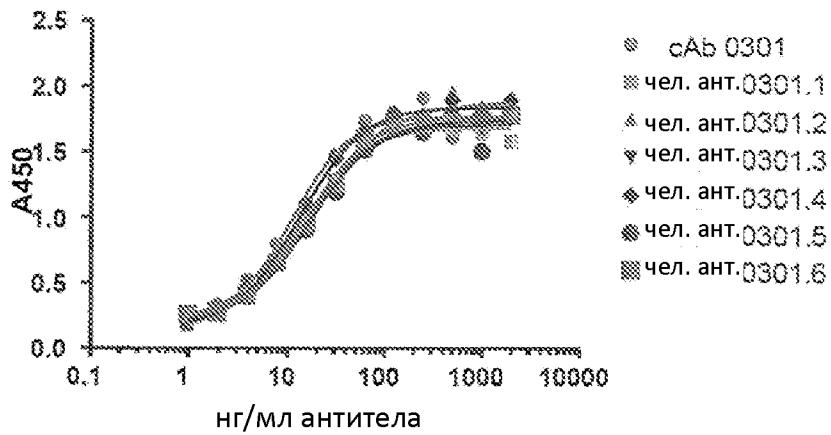
Фиг. 2 (продолжение)

C

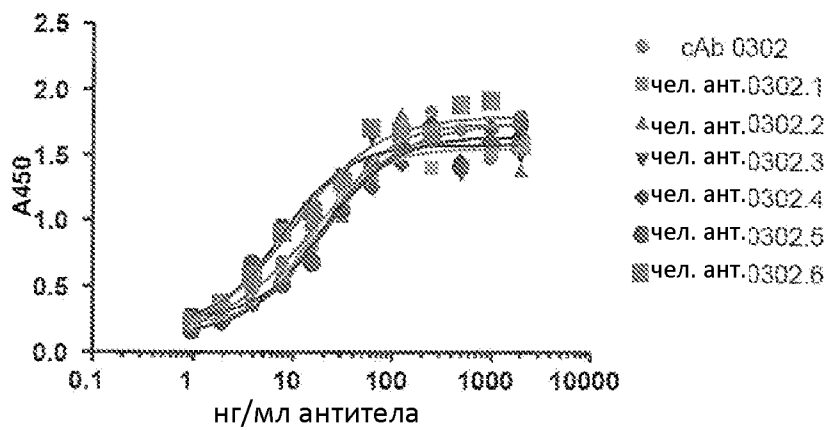
антитело ID	легкие/тяжелые цепи	CDRL3																	SEQ ID NO																				
		71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87		88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107
сAb0301	родительский	F	F	L	N	T	H	P	V	E	K	E	D	A	A	T	Y	Y	C	H	E	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	F	K	L	E	I	K	10	
	человеческий акцептор: D	F	F	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	E	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K	81-84	
Ab1	h0301-L0H0	F	F	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	E	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K	46	
Ab2	h0301-L0H1	F	F	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K	46
Ab3	h0301-L0H2	F	F	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K	46
Ab4	h0301-L1H0	F	F	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K	47
Ab5	h0301-L1H1	F	F	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K	47
Ab6	h0301-L1H2	F	F	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	H	L	S	N	E	D	L	S	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K	47
сAb0302	родительский	F	T	L	T	I	D	P	V	E	A	D	D	A	A	T	Y	F	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	G	G	T	R	L	R	I	K	12
	человеческий акцептор: E	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	85-88
Ab7	h0302-L0H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	48
Ab8	h0302-L1H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	49
Ab9	h0302-L2H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	50
Ab10	h0302-L0H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	48
Ab11	h0302-L1H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	49
Ab12	h0302-L2H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	S	K	E	L	P	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	50
сAb 0311	родительский	F	T	L	T	I	H	F	V	E	E	E	D	A	A	T	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	G	G	T	R	L	E	I	K	14
	человеческий акцептор: P	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	89-92
Ab13	h0311-L0H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	51
Ab14	h0311-L1H1	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	52
Ab15	h0311-L0H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	51
Ab16	h0311-L1H2	F	T	L	T	I	S	S	L	E	P	E	D	F	A	V	Y	Y	C	Q	Q	G	N	E	D	P	W	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	52

Фиг. 2 (продолжение)

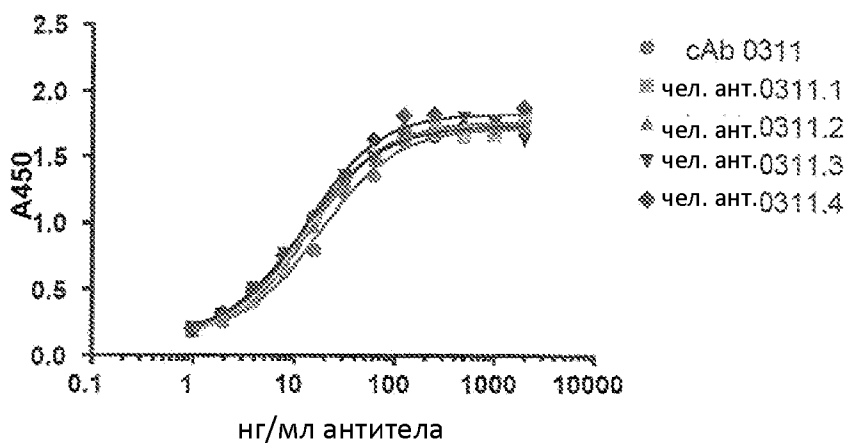
А Серия чел. антител 0301 против чел. CSF1R



В Серия чел. антител 0302 против чел. CSF1R

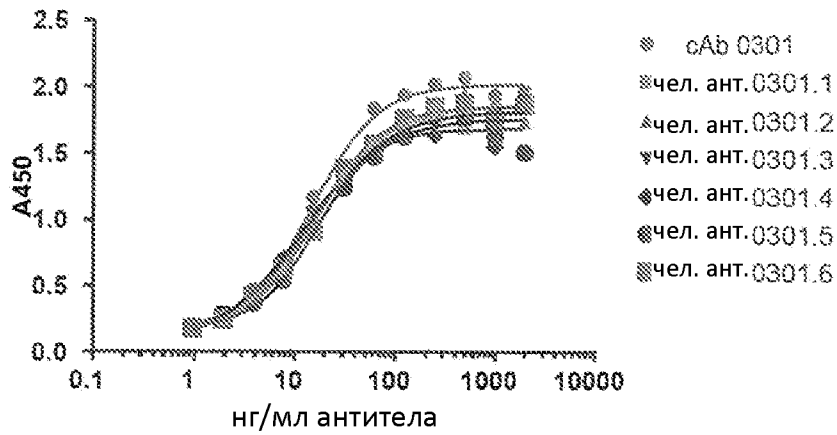


С Серия чел. антител 0311 против чел. CSF1R

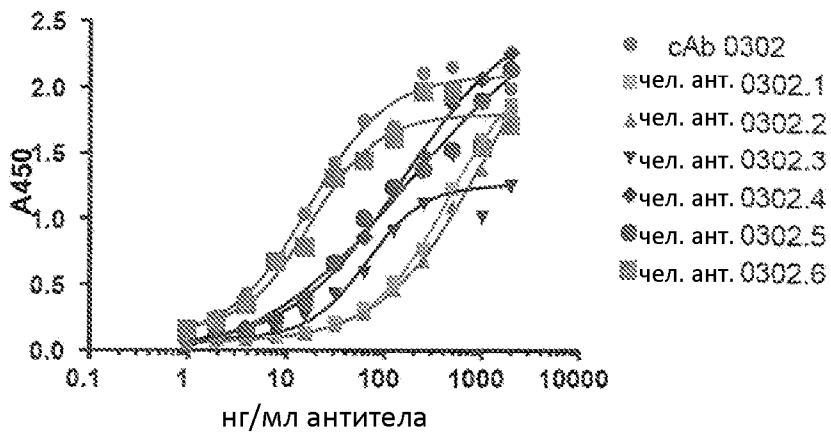


Фиг. 3

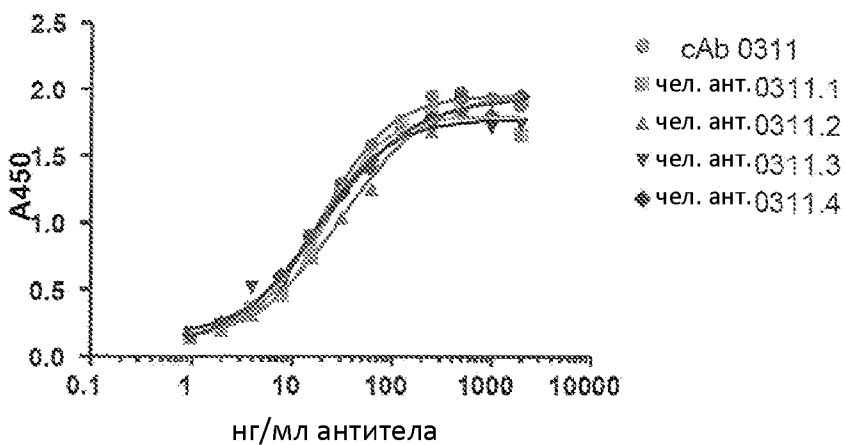
A Серия чел. антител 0301 против CSF1R макака-крабоеда



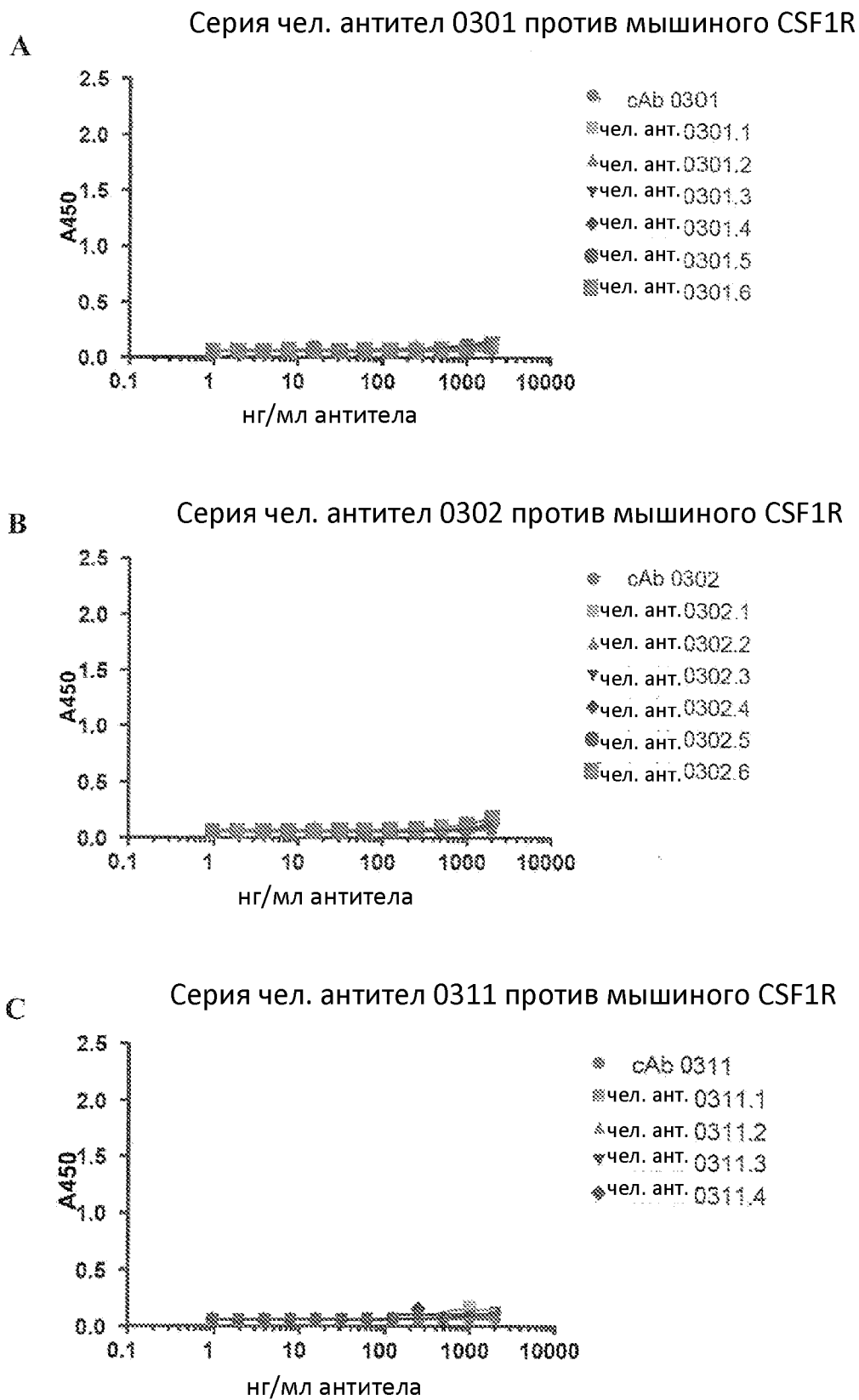
B Серия чел. антител 0302 против CSF1R макака-крабоеда



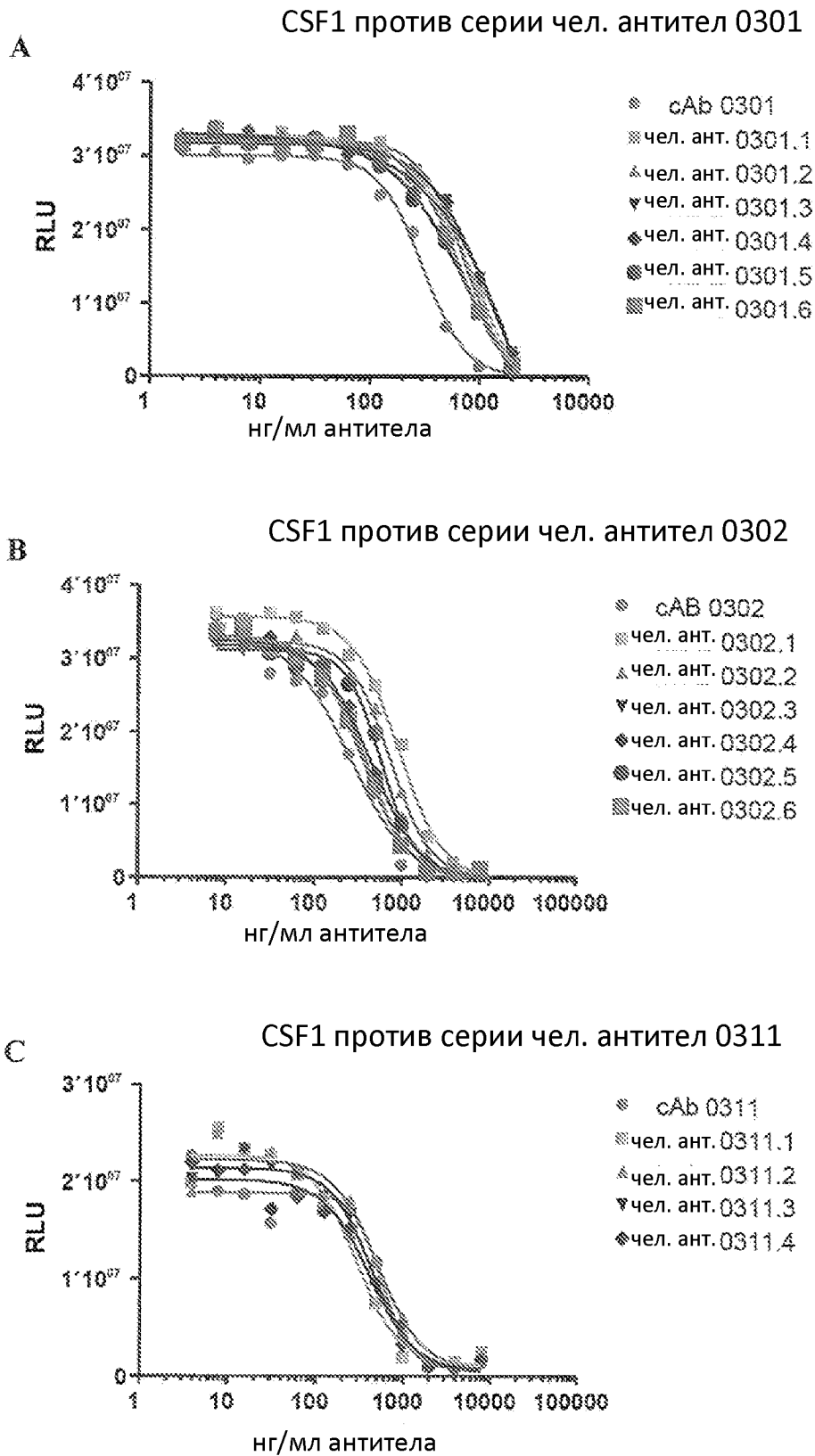
C Серия чел. антител 0311 против CSF1R макака-крабоеда



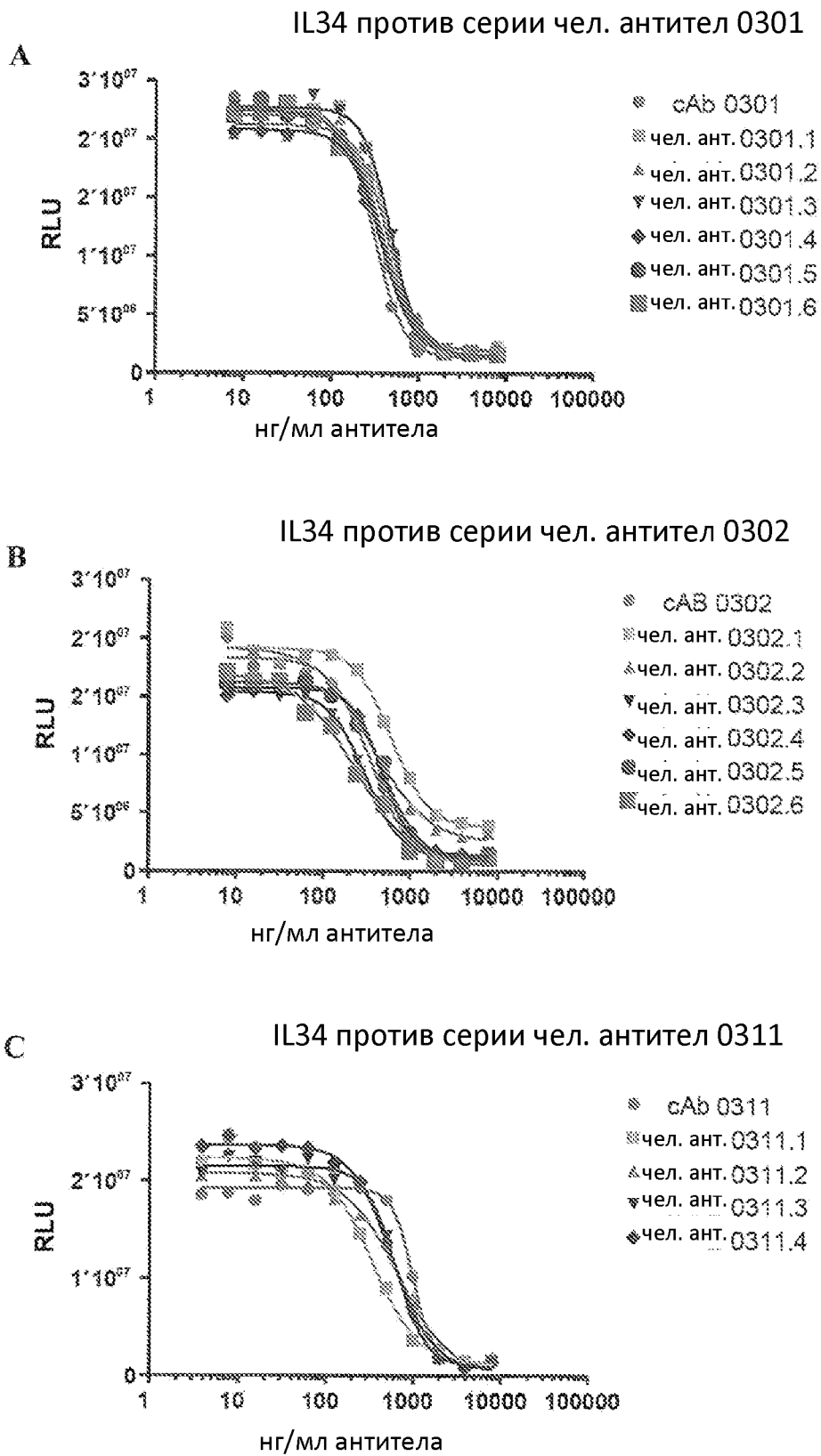
Фиг. 4



Фиг. 5

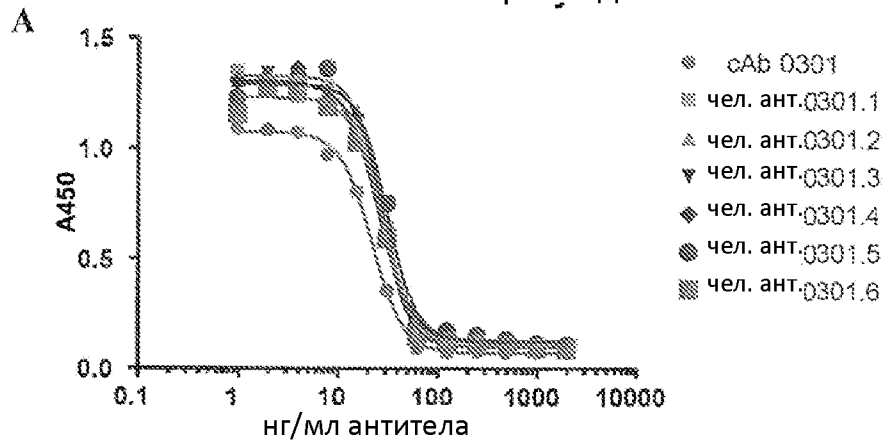


Фиг. 6

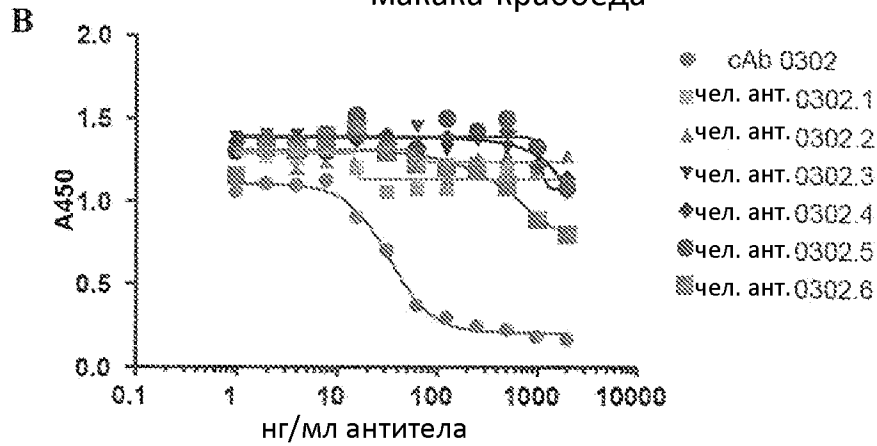


Фиг. 7

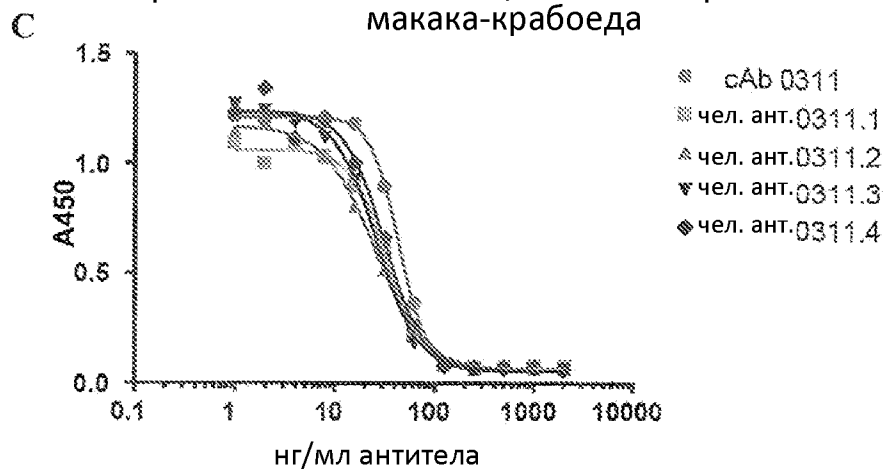
Серия чел. антител 0301 / чел. CSF1 против CSF1R
макака-крабоеда



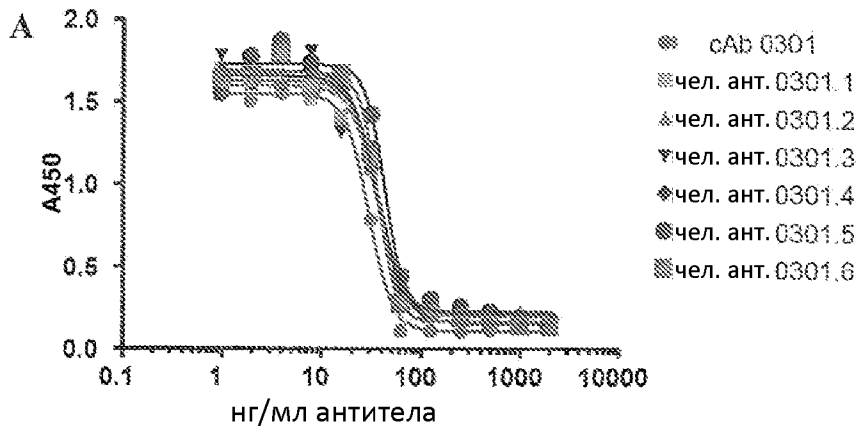
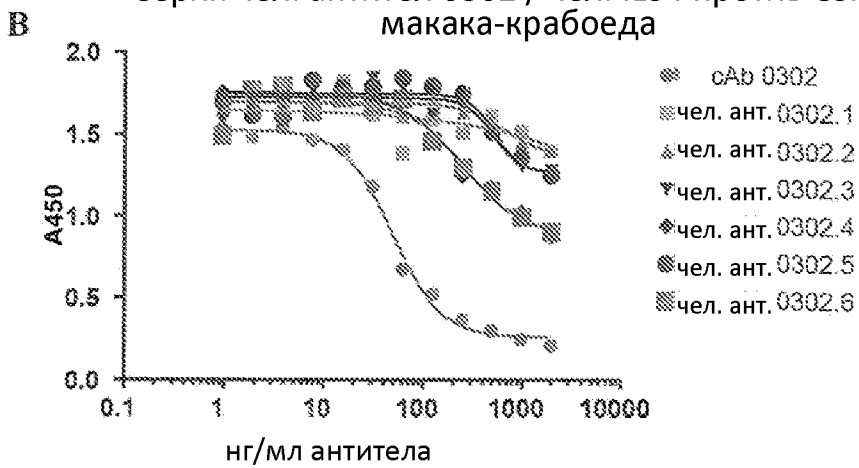
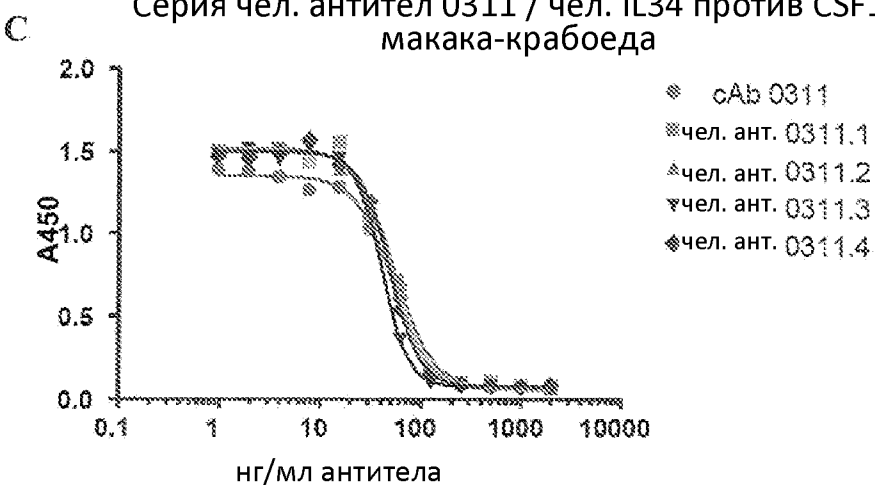
Серия чел. антител 0302 / чел. CSF1 против CSF1R
макака-крабоеда



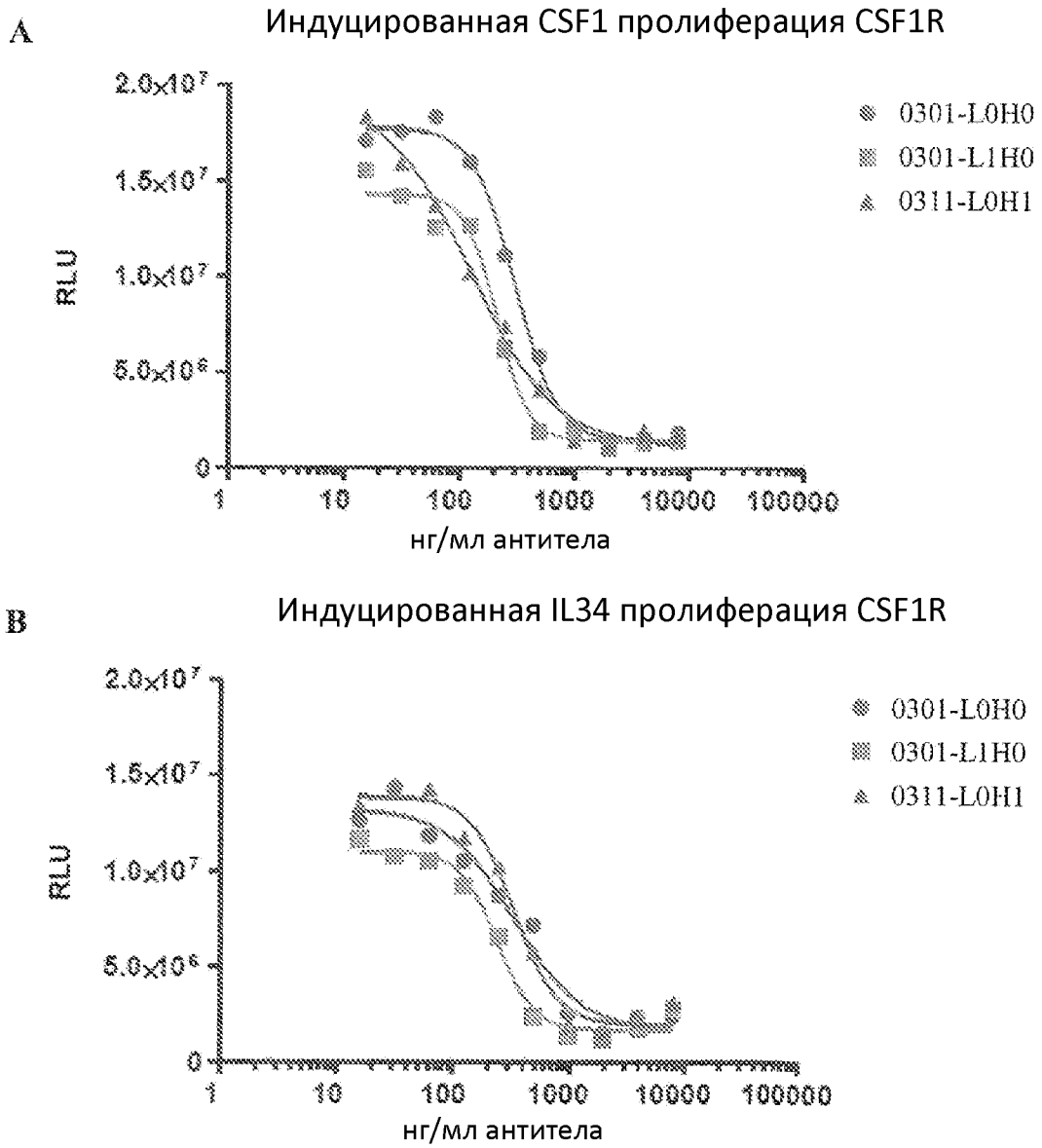
Серия чел. антител 0311 / чел. CSF1 против CSF1R
макака-крабоеда



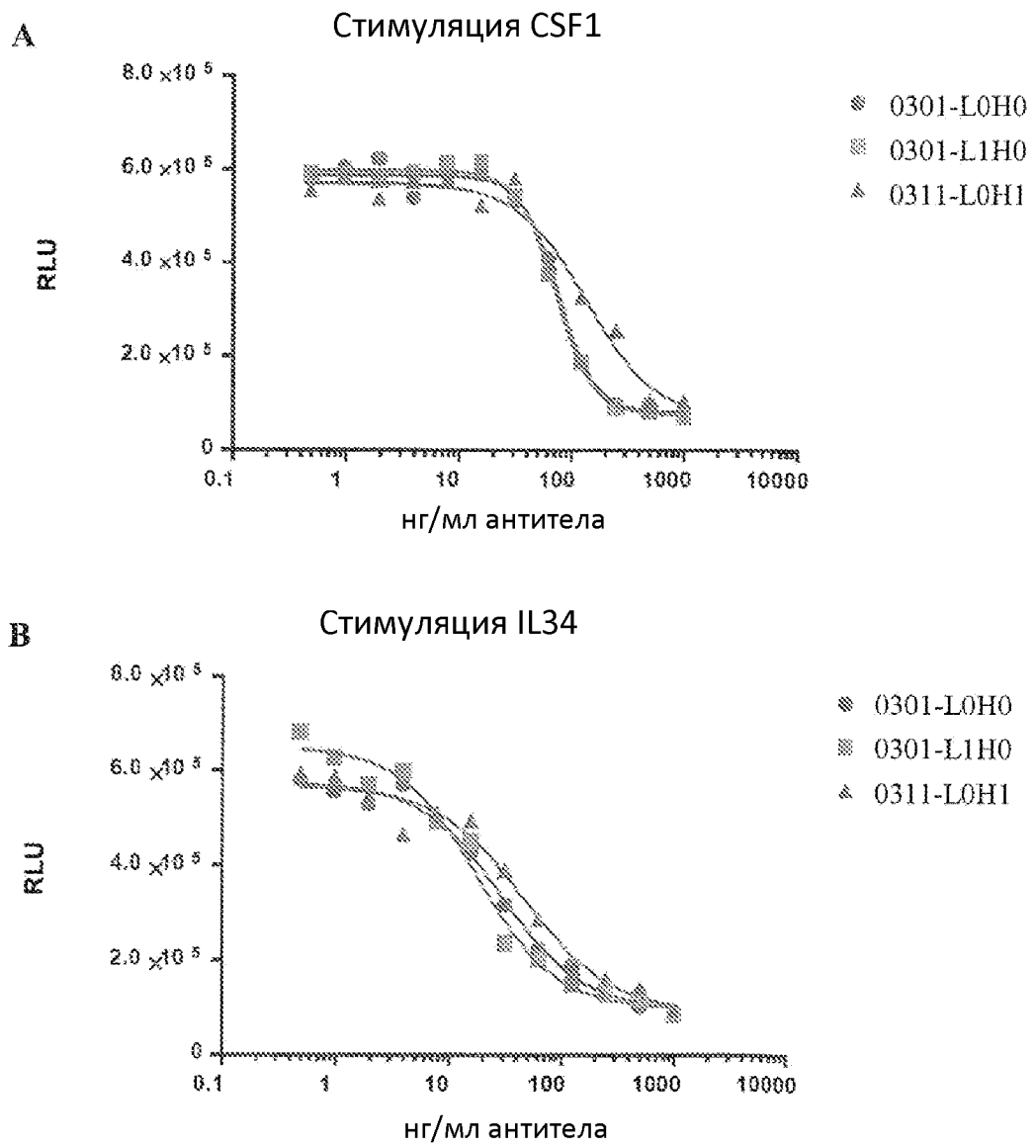
Фиг. 8

Серия чел. антител 0301 / чел. IL34 против CSF1R
макака-крабоедаСерия чел. антител 0302 / чел. IL34 против CSF1R
макака-крабоедаСерия чел. антител 0311 / чел. IL34 против CSF1R
макака-крабоеда

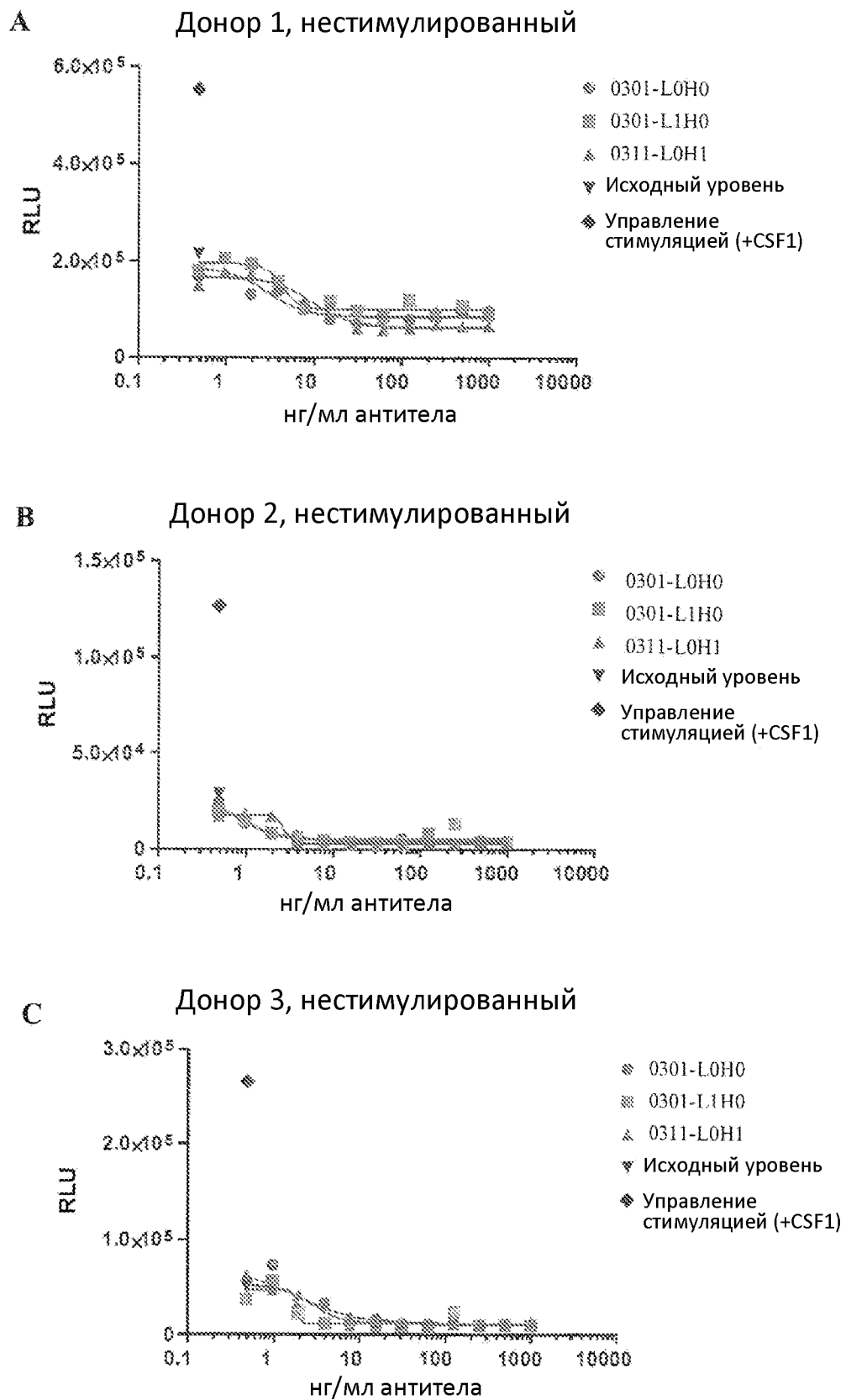
Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12