

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **044759**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- (45) Дата публикации и выдачи патента  
**2023.09.28**
- (21) Номер заявки  
**202092264**
- (22) Дата подачи заявки  
**2019.03.22**
- (51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)  
*C07K 16/18* (2006.01)  
*C07K 16/28* (2006.01)  
*A61P 43/00* (2006.01)

---

(54) **ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА АМИЛОИДОЗА**

---

- (31) **62/647,341**
- (32) **2018.03.23**
- (33) **US**
- (43) **2020.12.03**
- (86) **PCT/US2019/023528**
- (87) **WO 2019/183448 2019.09.26**
- (71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ПРОТЕНА БАЙОСАЙЕНСИЗ  
ЛИМИТЕД (IE)**
- (72) Изобретатель:  
**Ниджар Тарлочан, Долан Ш Филип  
Дж., Барбур Робин (US)**
- (74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**
- (56) **WO-A1-2018005967  
WO-A2-2009086539**  
DOLAN PHILIP ET AL.: "NEOD001 binds a wide repertoire of light chain sequences and aggregation states found in AL amyloidosis", XVIth International Symposium on Amyloidosis, March 26-29, 2018; Kumamoto Japan, 26 March 2018 (2018-03-26), XP002791249, retrieved from the Internet: URL: <http://ir.prothena.com/static-files/12d1aaee-11d9-4b4b-aac4-54610cb343c1> [retrieved on 2019-05-13], the whole document

- 
- (57) Способы лечения амилоидоза AL, связанного с отложением неправильно свернутых белков легкой цепи иммуноглобулина, и соответствующие способы применения, связанные с антителом, таким как антитело 2A4, или фармацевтическим составом, содержащим антитело.

**B1**

**044759**

**044759**

**B1**

### Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к техническим областям иммунологии и медицины.

#### Предшествующий уровень техники

Амилоидоз - это общий термин, который описывает ряд заболеваний, характеризующихся наличием патологических форм амилоидных белков, часто содержащих внеклеточное отложение белковых фибрилл, которые образуют многочисленные "амилоидные отложения" или "амилоидные бляшки", которые могут возникать на локальных участках или систематически. Эти отложения или бляшки состоят в основном из природных растворимых белков или пептидов, собранных в обширные нерастворимые отложения диаметром 10-100 мкм в различных участках тканей. Отложения обычно состоят из латеральных агрегатов фибрилл приблизительно 10-15 нм в диаметре. Амилоидные фибриллы при окрашивании красителем Конго Красный дают характерное двойное лучепреломление яблочно-зеленого цвета в поляризованном свете. Обычно фибриллярный состав этих отложений является отличительной характеристикой различных форм амилоидного заболевания.

Пептиды или белки, образующие отложения бляшек, часто происходят из более крупного белка-предшественника. Более конкретно, патогенез амилоидных агрегатов, таких как отложения фибрилл, обычно включает протеолитическое расщепление "аномального" белка-предшественника на фрагменты, которые объединяются в антипараллельные  $\beta$ -складчатые листы. Фибриллярный состав этих отложений является отличительной характеристикой различных форм амилоидного заболевания. Например, внутримозговые и цереброваскулярные отложения, состоящие в основном из фибрилл бета-амилоидного пептида ( $\beta$ -AP), характерны для болезни Альцгеймера (как семейных, так и спорадических форм), островковый амилоидный протеиновый пептид (IAPP; амилин) является отличительной характеристикой фибрилл в амилоидных отложениях островковых клеток поджелудочной железы, вызванных диабетом типа II, а  $\beta$ 2-микроглобулин является основным компонентом амилоидных отложений, которые образуются вследствие длительного лечения гемодиализом. Прион-ассоциированные заболевания, такие как болезнь Крейтцфельда-Якоба, также были признаны амилоидными заболеваниями.

В общем первичные амилоидозы отличаются наличием белковых фибрилл "амилоидного типа легкой цепи" (AL-типа), названных так из-за гомологии N-терминальной области AL фибрилл с варибельным фрагментом легкой цепи иммуноглобулина (каппа или лямбда). Различные формы заболевания были разделены на классы в основном на основании того, связан ли амилоидоз с основным систематическим заболеванием. Таким образом, некоторые расстройства считают первичными амилоидозами, при которых нет доказательств наличия ранее существовавшего или сопутствующего заболевания. Отложение амилоида AL обычно связано с практически любой дискразией линии В-лимфоцитов от злокачественного образования плазматических клеток (множественная миелома) до доброкачественной моноклональной гаммапатии. Иногда наличие амилоидных отложений может являться первичным показателем основного заболевания.

Фибриллы амилоидных отложений AL состоят из легких цепей моноклонального иммуноглобулина или их фрагментов. Более конкретно, фрагменты происходят из N-терминальной области легкой цепи (каппа или лямбда) и содержат весь или часть ее варибельного (VL) домена. Отложения обычно возникают в мезенхимальных тканях, вызывая периферическую и автономную нейропатию, туннельный запястный синдром, макроглоссию, рестриктивную кардиомиопатию, артропатию крупных суставов, иммунные дискразии, миеломы, а также скрытые дискразии. Однако следует отметить, что может быть поражена практически любая ткань, особенно внутренние органы, такие как сердце.

При вторичном или реактивном (тип AA) амилоидозе, отличающемся наличием отложений фибрилл амилоидного протеина A (AA), существует основное или связанное с ним состояние хронического воспалительного или инфекционного заболевания. К таким заболеваниям относятся, но без ограничения, воспалительные заболевания, такие как ревматоидный артрит, ювенильный хронический артрит, анкилозирующий спондилит, псориаз, псориатическая артропатия, синдром Рейтера, болезнь Стилла у взрослых, синдром Бехчета и болезнь Крона. Отложения AA также образуются в результате хронических микробных инфекций, таких как проказа, туберкулез, бронхоэктаз, пролежни, хронический пиелонефрит, остеомиелит и болезнь Уиппла. Некоторые злокачественные новообразования также могут приводить к отложению амилоидных фибрилл AA. К ним относятся такие состояния, как лимфома Ходжкина, карцинома почек, карцинома кишечника, легких и мочеполовых путей, базальноклеточная карцинома и волосатоклеточный лейкоз. Амилоидная болезнь AA также может быть результатом наследственных воспалительных заболеваний, таких как семейная средиземноморская лихорадка. Кроме того, амилоидная болезнь AA может быть результатом лимфопролиферативных нарушений, таких как болезнь Кастанеллана.

Фибриллы AA состоят из пептидных фрагментов, которые различаются по размеру, но обычно составляют приблизительно 8000 дальтон (пептид AA или белок), образованных за счет протеолитического расщепления сывороточного амилоидного белка A (SSA), циркулирующего аполипопротеина, который присутствует в частицах HDL и который синтезируется в гепатоцитах в ответ на такие цитокины, как интерлейкин (IL)-1 и IL-6, а также фактор некроза опухолей  $\alpha$ . Протеолитическое расщепление приводит к патологическому отложению N-терминальных двух третей белка SAA из ~76 остатков. У людей концен-

трация SAA в плазме обычно составляет ~0,1 мг/мл, но может увеличиваться более чем в 1000 раз в ответ на воспалительный стимул. В рамках этого процесса молекула SAA подвергается протеолизу, а продукт N-терминального расщепления системно откладывается в виде фибрилл AA в жизненно важных органах, таких как печень, селезенка, почки и надпочечники. Отложения также распространены в сердце и желудочно-кишечном тракте.

Амилоидозы как AL, так и AA являются серьезными системными заболеваниями со значительным процентом смертности. Хотя ожидаемая продолжительность жизни пациентов с диагнозом амилоидоз увеличилась за последние два года, текущие методы лечения сосредоточены на сокращении наличия белков, которые образуют амилоидные фибриллы. Соответственно существует большая неудовлетворенная потребность в видах терапии, которые воздействуют исключительно на растворимые токсичные агрегаты и отложенные амилоидные фибриллы, тем самым сохраняя и улучшая функцию жизненно важных органов.

### **Сущность изобретения**

Настоящее изобретение относится к лечению амилоидоза AL, связанного с отложением неправильно свернутых белков легкой цепи иммуноглобулина, имеющих аминокислотную последовательность GD в позициях 81-82 (нумерация по Кабату). В некоторых аспектах настоящего изобретения лечение амилоидоза AL предусматривает назначение пациенту эффективной дозы антитела. В некоторых аспектах настоящего изобретения антитело представляет собой химерное антитело. В некоторых аспектах изобретения антитело представляет собой гуманизированное антитело. В некоторых аспектах изобретения антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент антитела, такой как Fab-фрагмент, Fab'-фрагмент, F(ab')<sub>2</sub>-фрагмент, F(ab)<sub>c</sub>-фрагмент, Dab, нанотело или Fv-фрагмент.

В некоторых аспектах изобретения антитело представляет собой химерный или гуманизированный вариант антитела 2A4 (регистрационный номер ATCC 9662), например NEOD001. Некоторые формы антитела 2A4 содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую три определяющих комплементарность области SEQ ID NO: 1, 2 и 3, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую три определяющих комплементарность области SEQ ID NO: 4, 5 и 6. Например, антитело 2A4 может содержать вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 8 или 9, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, 11 или 12. Некоторые формы антитела 2A4 содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. В некоторых аспектах легкая цепь антитела 2A4 может кодироваться последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 15 или SEQ ID NO: 16. В некоторых аспектах тяжелая цепь антитела 2A4 может кодироваться последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 18.

Настоящее раскрытие также относится к применению антитела, такого как антитела, описанные выше, для лечения пациента, страдающего амилоидозом AL. Настоящее раскрытие также относится к применению антитела, такого как антитела, описанные выше, при производстве лекарственного средства для лечения пациента, страдающего амилоидозом AL. Настоящее раскрытие также относится к антителу, такому как антитела, описанные выше, для применения при лечении пациента, страдающего амилоидозом AL.

В некоторых аспектах изобретения антитело составляют в виде и/или вводят/подлежит введению в виде фармацевтического состава, который не только содержит антитело, но также содержит гистидиновый буфер, трегалозу, полисорбат 20 и может быть составлен в определенном диапазоне pH. В некоторых аспектах изобретения фармацевтический состав вводят/подлежит введению пациенту внутривенно или подкожно через определенные интервалы времени и в определенных дозах. Такие временные интервалы и дозы могут быть заранее определены и/или могут быть скорректированы на основании измеримых улучшений почечной функции. В качестве примера антитело можно внутривенно или подкожно вводить/подлежит введению пациенту в количестве от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг с частотой от приблизительно один раз в неделю до приблизительно один раз в три месяца. В качестве дополнительного примера, антитело можно внутривенно вводить/подлежит введению пациенту в количестве приблизительно 24 мг/кг каждые 28 дней.

В некоторых аспектах изобретения одно или несколько средств можно вводить, одновременно вводят/подлежат введению или будут позже введены/можно вводить позже пациенту. Иллюстративные средства также можно вводить/подлежат введению как часть схемы лечения.

Способы лечения и соответствующие способы применения в соответствии с изложенными здесь принципами могут замедлять, останавливать или способствовать положительной динамике хронических заболеваний одной или нескольких функций внутренних органов, связанных с амилоидозом AL, и тем самым улучшать качество жизни пациента и/или увеличивать продолжительность жизни пациента.

### **Краткое описание чертежей**

На фиг. 1 показана способность NEOD001 и 2A4 связываться с пептидами X<sub>1</sub>EDX<sub>2</sub> и X<sub>1</sub>GDX<sub>2</sub>. Планшеты для ELISA покрывали указанными пептидами, блокировали и анализировали с помощью NEOD001 или 2A4, как указано. После промывания применяли соответствующие вторичные антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена. Затем планшет промывали, обрабатывали о-фенилендиаменом и

считывали оптическую плотность при 490 нм.

На фиг. 2 показана способность NEOD001 и 2A4 связываться как с растворимыми, так и с нерастворимыми амилоидными фибриллами, полученными у пациентов с амилоидозом AL. С помощью микродиссекции с лазерным захватом/масс-спектрометрии определили, что легкие амилоидные цепи пациентов содержали аминокислотные остатки -ED- и -GD- в позициях 81 и 82 соответственно (нумерация по Кабату).

#### Подробное описание изобретения

NEOD001 (SEQ ID NO: 13 и 14) представляет собой исследуемое моноклональное антитело, которое специфически нацелено на множество форм вызывающих заболевание агрегатов с неправильно свернутой легкой цепью при амилоидозе AL. Считается, что NEOD001 нейтрализует растворимые токсичные агрегаты и вызывает удаление нерастворимых отложений амилоидных фибрилл посредством фагоцитоза. NEOD001 имеет общие определяющие комплементарность области (CDR) с мышинным антителом 2A4 (регистрационный номер ATCC 9662). Такие антитела специфически распознают криптоический эпитоп в белках каппа и лямбда легкой цепи (LC), который особым образом открывается во время неправильного сворачивания и агрегации и, как было показано, связывается с белками, имеющими консенсусную последовательность  $X_1EDX_2$ , причем  $X_1$  и  $X_2$  представляют собой различные аминокислотные остатки, присутствующие в позициях 80 и 83, и остатки глутаминовой кислоты (E) и аспарагиновой кислоты (D) в позициях 81 и 82 (нумерация легких цепей иммуноглобулина по Кабату).

Однако из-за генетической изменчивости не у всех пациентов с амилоидозом AL продуцируются неправильно свернутые легкие цепи, имеющие криптоический эпитоп, содержащий консенсусную последовательность  $X_1EDX_2$ . Соответственно до настоящего раскрытия рядовой специалист в данной области мог бы полагать, что лечение этих пациентов любым из вышеуказанных антител не будет эффективным, поскольку антитела не будут связываться с растворимыми или осажденными амилоидными белками у пациентов. Вопреки этому мнению неожиданно было обнаружено, что NEOD001 и 2A4 также связываются с белками легкой цепи с глициновым остатком в позиции 81 (нумерация по Кабату), т.е. с пептидами и белками, которые содержат последовательность  $X_1GDX_2$ .

Таким образом, в изобретении представлены способы лечения пациента, страдающего или имеющего риск развития амилоидоза AL, связанного с отложением неправильно свернутых белков легкой цепи иммуноглобулина, имеющих аминокислотную последовательность GD в позициях 81-82 (нумерация по Кабату). Не связывая себя теорией, авторы полагают, что эти неправильно свернутые белки легкой цепи содержат криптоический эпитоп, содержащий консенсусную последовательность  $X_1GDX_2$ . Лечение таких пациентов предусматривает введение пациенту эффективной дозы антитела, тем самым замедляя, останавливая или способствуя положительной динамике нарушений одной или нескольких функций внутренних органов пациента. Рядовому специалисту в данной области будет понятно, что оценка функции внутренних органов до и после лечения может быть выполнена множеством способов, установленных в данной области.

Антитело может представлять собой химерное антитело. Другое иллюстративное антитело представляет собой гуманизированное антитело. Антитело может представлять собой антигенсвязывающий фрагмент антитела, такой как Fab-фрагмент, Fab'-фрагмент, F(ab')<sub>2</sub>-фрагмент, F(ab)<sub>2</sub>-фрагмент, Dab, нанотело или Fv-фрагмент.

В некоторых способах изобретения антитело представляет собой моноклональное антитело, содержащее определяющие комплементарность области антитела 2A4 (регистрационный номер ATCC 9662), например химерное антитело или гуманизированное антитело. В некоторых способах антитело представляет собой NEOD001. Некоторые формы антитела 2A4 содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую три определяющие комплементарность области SEQ ID NO: 1, 2 и 3, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую три определяющие комплементарность области SEQ ID NO: 4, 5 и 6. Например, антитело 2A4 может содержать вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 8 или 9, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, 11 или 12. Некоторые формы антитела 2A4 содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. В некоторых аспектах легкая цепь антитела 2A4 может кодироваться последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 15 или SEQ ID NO: 16. В некоторых аспектах тяжелая цепь антитела 2A4 может кодироваться последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 18.

Некоторые способы согласно настоящему изобретению предусматривают применение определенных фармацевтических составов, например, фармацевтических составов, содержащих

- a) антитело в концентрации в диапазоне от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл;
- b) гистиридиновый буфер в концентрации в диапазоне от приблизительно 20 мМ до приблизительно 30 мМ;
- c) трегалозу в концентрации в диапазоне от приблизительно 210 мМ до приблизительно 250 мМ; и
- d) полисорбат 20 в концентрации в диапазоне от приблизительно 0,005% по массе до приблизительно 0,05% по массе,

причем состав отличается рН в диапазоне от приблизительно 6 до приблизительно 7.

В некоторых составах

- а) антитело присутствует в концентрации приблизительно 50 мг/мл;
- б) гистидиновый буфер присутствует в концентрации приблизительно 25 мМ;
- с) трегалоза присутствует в концентрации приблизительно 230 мМ;
- д) полисорбат 20 присутствует в концентрации приблизительно 0,2 г/л, при этом рН составляет приблизительно 6,5.

Некоторые способы согласно настоящему изобретению предусматривают применение определенных дозировок и лечебной схемы. В некоторых способах дозировка составляет от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг, а антитело вводят внутривенно или подкожно с частотой от приблизительно один раз в неделю до приблизительно один раз в три месяца. В некоторых способах дозировка составляет приблизительно 24 мг/кг, а антитело вводят внутривенно каждые 28 дней.

Антитела.

Термин "антитело" включает в себя интактные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты. Как правило, фрагменты конкурируют с интактным антителом, из которого они были получены, за конкретное связывание с мишенью, в том числе отдельными тяжелыми цепями, легкими цепями Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, F(ab)<sub>2</sub>, Dab, нанотелами и Fv. Фрагменты могут быть получены методами рекомбинантной ДНК или ферментативным или химическим разделением интактных иммуноглобулинов. Термин "антитело" также включает в себя биспецифическое антитело и/или гуманизованное антитело. Биспецифическое или бифункциональное антитело представляет собой искусственное гибридное антитело, имеющее две разные пары тяжелой/легкой цепи и два разных участка связывания.

Термин "гуманизованный иммуноглобулин" или "гуманизованное антитело" относится к иммуноглобулину или антителу, которое содержит по меньшей мере одну цепь гуманизованного иммуноглобулина или антитела (т.е. по меньшей мере одну гуманизованную легкую или тяжелую цепь). Термин "цепь гуманизованного иммуноглобулина" или "цепь гуманизованного антитела" (т.е. "легкая цепь гуманизованного иммуноглобулина" или "тяжелая цепь гуманизованного иммуноглобулина") относится к цепи иммуноглобулина или антитела (т.е. легкой или тяжелой цепи соответственно), имеющей вариабельную область, которая содержит вариабельную каркасную область, по существу из человеческого иммуноглобулина или антитела, и области, определяющие комплементарность (CDR) (например, по меньшей мере одну CDR, предпочтительно две CDR, более предпочтительно три CDR), по существу из не являющегося человеческим иммуноглобулина или антитела, и дополнительно содержит константные области (например, по меньшей мере одну константную область или ее часть в случае легкой цепи, и предпочтительно три константные области в случае тяжелой цепи). Термин "гуманизованная вариабельная область" (например, "гуманизованная вариабельная область легкой цепи" или "гуманизованная вариабельная область тяжелой цепи") относится к вариабельной области, которая содержит вариабельную каркасную область, по существу из человеческого иммуноглобулина или антитела, и области, определяющие комплементарность (CDR), по существу из не являющегося человеческим иммуноглобулина или антитела.

Фраза "по существу из человеческого иммуноглобулина или антитела" или "по существу человеческий" означает, что при выравнивании с аминокислотной последовательностью человеческого иммуноглобулина или антитела для целей сравнения область имеет по меньшей мере 80-90%, предпочтительно 90-95%, более предпочтительно 95-99% идентичность (т.е. идентичность локальной последовательности) с последовательностью человеческой каркасной или константной области, что позволяет, например, делать консервативные замены, замены консенсусной последовательности, замены зародышевой линии, обратные мутации и т.п. Применение консервативных замен, замен консенсусной последовательности, замен зародышевой линии, обратных мутаций и т.п. часто называют "оптимизацией" гуманизованного антитела или цепи. Фраза "по существу из иммуноглобулина или антитела, не являющегося человеческим" или "по существу не являющийся человеческим" означает наличие последовательности иммуноглобулина или антитела не менее 80-95%, предпочтительно 90-95%, более предпочтительно 96%, 97%, 98% или на 99% идентичного таковому для не человеческого организма, например, не являющегося человеком млекопитающего.

Соответственно все области или остатки гуманизованного иммуноглобулина или антитела либо цепи гуманизованного иммуноглобулина или антитела за исключением, возможно, CDR по существу идентичны соответствующим областям или остаткам одной или нескольких нативных последовательностей иммуноглобулина человека. Термин "соответствующая область" или "соответствующий остаток" относится к области или остатку на второй аминокислотной или нуклеотидной последовательности, который занимает такую же (т.е. эквивалентную) позицию, как и область или остаток на первой аминокислотной или нуклеотидной последовательности, когда первая и вторая последовательности оптимально выровнены для целей сравнения.

Предусмотрены различные антитела, подходящие для лечения амилоидоза AL в соответствии со способами и соответствующими вариантами применения, раскрытыми в данном документе. Например, подходит химерный вариант антитела 2A4. Подходит также гуманизованный вариант антитела 2A4.

Один подходящий вариант антитела 2A4 содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую три определяющих комплементарности области SEQ ID NO: 1, 2 и 3, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую три определяющих комплементарности области SEQ ID NO: 4, 5 и 6. Другой подходящий вариант антитела 2A4 содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 8 и 9, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, 11 или 12. Еще один подходящий вариант антитела 2A4 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. Также подходят и предусмотрены антигенсвязывающие фрагменты антитела 2A4, такие как Fab-фрагмент, Fab'-фрагмент, F(ab')<sub>2</sub>-фрагмент, F(ab)<sub>c</sub>-фрагмент, Dab, нанотело или Fv-фрагмент.

Фармацевтические составы.

В некоторых раскрытых в данном документе способах и соответствующих вариантах применения антитело можно вводить в виде фармацевтического состава. Например, иллюстративные фармацевтические составы в дополнение к антителам содержат гистидиновый буфер, трегалозу и полисорбат 20. В некоторых составах антитело присутствует в концентрации в диапазоне от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл; гистидиновый буфер присутствует в концентрации в диапазоне от приблизительно 20 мМ до приблизительно 30 мМ; трегалоза присутствует в концентрации в диапазоне от приблизительно 210 мМ до приблизительно 250 мМ; полисорбат 20 присутствует в концентрации в диапазоне от приблизительно 0,005% до приблизительно 0,05% по массе; и pH находится в диапазоне от приблизительно 6 до приблизительно 7.

В некоторых составах антитело присутствует в концентрации в диапазоне от приблизительно 5 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл. В некоторых составах антитело присутствует в концентрации в диапазоне от приблизительно 5 мг/мл до приблизительно 15 мг/мл. В некоторых составах антитело присутствует в концентрации в диапазоне от приблизительно 25 мг/мл до приблизительно 75 мг/мл. Например, антитело может присутствовать в концентрации приблизительно 10 мг/мл или присутствовать в концентрации приблизительно 50 мг/мл. Антитело может присутствовать в стерильной жидкой дозированной лекарственной форме от приблизительно 50 мг/флакон до приблизительно 500 мг/флакон или более. Например, антитело может присутствовать в стерильной жидкой дозированной лекарственной форме приблизительно 100 мг/флакон.

Гистидиновый буфер может присутствовать в некоторых составах в концентрации приблизительно 25 мМ. В некоторых составах гистидиновый буфер содержит L-гистидин и моногидрат L-гистидина HCl. Например, в некоторых составах L-гистидин присутствует в концентрации в диапазоне от приблизительно 16 мМ до приблизительно 22 мМ и моногидрат L-гистидина HCl присутствует в концентрации в диапазоне от приблизительно 4 мМ до приблизительно 8 мМ.

В некоторых составах трегалоза присутствует в концентрации от приблизительно 210 мМ до приблизительно 250 мМ, например приблизительно 230 мМ. В некоторых составах используется другой невосстанавливающий сахар, такой как сахароза, маннит или сорбит.

В некоторых составах полисорбат 20 присутствует в концентрации в диапазоне от приблизительно 0,005% по весу до приблизительно 0,05% по весу, например 0,005, 0,01, 0,015, 0,02, 0,025, 0,03, 0,035, 0,04, 0,045 или 0,05% по весу. В альтернативном варианте в некоторых составах полисорбат 20 присутствует в концентрации в диапазоне приблизительно от 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25, 0,3, 0,35, 0,4, 0,45 или 0,5 г/л. Некоторые составы включают полисорбат 20 г/л в концентрации 0,2 г/л.

Некоторые составы отличаются pH в диапазоне приблизительно 6-7, например pH 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 или 7,0. Некоторые составы имеют pH приблизительно 6,5. Некоторые составы отличаются тем, что осмоляльность составляет приблизительно 300 мОсм/кг. В некоторые составы также может быть включен объемобразующий агент.

Обычно составы являются стерильными, что достигается, например, путем стерильной фильтрации с использованием фильтра 0,2 или 0,22 мкм. Раскрытые в данном документе составы также обычно стабильны при замораживании и оттаивании.

Необязательно раскрытые в данном документе составы могут дополнительно содержать другие вспомогательные вещества, такие как сахараиды, полиолы и аминокислоты (например, аргинин, лизин и метионин). В настоящем изобретении также представлены составы, по существу не содержащие поверхностно-активное вещество, неорганические соли, дополнительные сахара и/или другие вспомогательные вещества, т.е. приблизительно менее 0,0005%, менее 0,0003% или менее 0,0001% таких соединений.

Иллюстративный состав содержит антитело, которое присутствует в концентрации приблизительно 50 мг/мл, гистидиновый буфер присутствует в концентрации приблизительно 25 мМ, трегалоза присутствует в концентрации приблизительно 230 мМ, полисорбат 20 присутствует в концентрации приблизительно 0,2 г/л и pH приблизительно 6,5.

Раскрытые в данном документе составы могут быть представлены в дозированной лекарственной форме, подходящей для парентерального (например, внутривенного, внутримышечного, подкожного) введения. В зависимости от конкретных применений состав может быть альтернативно представлен в дозировке, подходящей для ректального, трансдермального, назального, вагинального, ингаляционного,

глазного или другого введения. Фармацевтические составы обычно готовят в соответствии с обычной фармацевтической практикой. См., например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (19th ed.) ed. A.R. Gennaro, 1995, Mack Publishing Company, Easton, Pa. and Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J.C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, N.Y.

В некоторых способах фармацевтический состав можно вводить пациенту внутривенно или подкожно с частотой от приблизительно один раз в неделю до приблизительно один раз в три месяца с дозировкой антитела в диапазоне от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг. Например, фармацевтический состав можно вводить пациенту внутривенно каждые 28 дней с дозировкой антитела приблизительно 24 мг/кг.

В раскрытых в данном документе способах и соответствующих вариантах применения также могут быть использованы фармацевтические препараты, содержащие лиофилизированную форму антитела и инструкции по восстановлению и применению. Например, иллюстративный фармацевтический препарат может содержать

- (a) флакон, содержащий приблизительно от 100 до 500 мг антитела в форме порошка;
- (b) инструкции по восстановлению антитела; и
- (c) инструкции по приготовлению восстановленного антитела для инъекции, так что лиофилизованное антитело восстанавливают водой для инъекций до экстрагируемого объема 10 мл.

Способы лечения.

Раскрытые в данном документе способы и соответствующие варианты применения предназначены для лечения пациентов, страдающих амилоидозом AL, связанным с отложением неправильно свернутых белков легкой цепи иммуноглобулина, имеющих аминокислотную последовательность GD в позициях 81-82 (нумерация по Кабату). Такие способы лечения предусматривают введение пациенту эффективной дозировки антитела.

Некоторые раскрытые в данном документе способы лечения предусматривают введение пациенту эффективной дозы химерного или гуманизированного варианта антитела 2A4 (регистрационный номер ATCC 9662). Антитело 2A4 может содержать переменную область легкой цепи, содержащую три определяющих комплементарности области SEQ ID NO: 1, 2 и 3, и переменную область тяжелой цепи, содержащую три определяющих комплементарности области SEQ ID NO: 4, 5 и 6. В некоторых способах антитело 2A4 содержит переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 8 или 9, и переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, 11 или 12. В некоторых способах антитело 2A4 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

В рамках настоящего изобретения термины "лечить" и "лечение" относятся к облегчению или уменьшению интенсивности одного или нескольких симптомов или эффектов, связанных с амилоидозом AL, профилактике, ингибированию или задержке появления одного или нескольких симптомов или эффектов амилоидоза AL, уменьшению тяжести или частоты проявления одного или нескольких симптомов или эффектов амилоидоза AL и/или улучшению или изменению в сторону желаемых результатов, как описано в данном документе.

Желаемые результаты раскрытых в данном документе способов лечения варьируются в зависимости от профиля пациента, и специалист в данной области может легко их определить. Обычно желаемые результаты включают измеримые показатели, такие как уменьшение или клиренс патологических амилоидных фибрилл, снижение или ингибирование агрегации амилоида и/или отложения амилоидных фибрилл, и усиление иммунного ответа на патологические и/или агрегированные амилоидные фибриллы. Желаемые результаты также подразумевают уменьшение симптомов, характерных для амилоидного заболевания. Например, желаемые результаты лечения амилоидоза AL подразумевают уменьшение частоты возникновения или тяжести известных симптомов, таких как дисфункция органов, периферическая и автономная невропатия, туннельный запястный синдром, макроглоссия, рестриктивная кардиомиопатия, артропатия крупных суставов, иммунные дискразии, миеломы, а также скрытые дискразии. Желаемые результаты раскрытых терапий, как правило, представляют собой поддающиеся количественной оценке показатели в сравнении с контрольными или исходными измерениями. В рамках настоящего изобретения относительные понятия, такие как "улучшать", "увеличивать" или "уменьшать" указывают значения, относящиеся к контрольному варианту, как например измерение у одного и того же пациента до начала лечения, описанного в данном документе, или измерение у контрольного пациента или группы. Контрольный пациент - это пациент, страдающий тем же амилоидным заболеванием, что и пациент, подлежащий лечению, приблизительно одного возраста с пациентом, подлежащим лечению (для гарантии, что стадии заболевания у пациента, получающего лечение, и контрольного пациента сопоставимы), но который не получал лечения с использованием раскрытых составов антител. В этом случае эффективность раскрытых составов антител оценивается по сдвигу или тенденции отклонения от измеримых показателей в контрольном варианте до лечения. В альтернативном варианте контрольным пациентом является здоровый пациент, приблизительно одного возраста с пациентом, подлежащим лечению. В этом случае эффективность раскрытых составов антител оценивается по сдвигу или тенденции в сторону от измери-

мых показателей в здоровом контрольном варианте. Изменения или улучшения в ответ на терапию обычно являются статистически значимыми и описываются значением  $p$ , меньше или равным 0,1, меньше 0,05, меньше 0,01, меньше 0,005 или меньше 0,001, которые можно рассматривать как значимые.

Как у бессимптомных, так и у пациентов с симптомами лечение в соответствии с раскрытыми способами можно начинать в любое время до или после диагностики основного амилоидного заболевания AL. Лечение обычно предполагает прием нескольких доз в течение периода времени. Лечение можно контролировать путем проведения анализа на содержание антитела или применения SAP сцинтиграфии с радиоактивной меткой в динамике. Если реакция снижается, может быть показана повторная доза. Реакцию пациентов с амилоидозом AL на лечение можно контролировать путем оценки сердечных маркеров, таких как NT-proBNP и/или тропонин, креатин сыворотки и/или щелочная фосфатаза; путем проведения анализов на содержание свободной легкой цепи (SFLC), количественных анализов на содержание иммуноглобулина, биопсии, электрофореза сывороточных белков (SPEP), электрофореза белков мочи (UPEP), сыворотки, электрофореза иммунофиксации мочи (IFE) и/или методов визуализации органов. Иллюстративный полный ответ (CR) может быть определен из критериев ответа, в том числе отрицательной IFE сыворотки и мочи, нормального содержания и/или  $<5\%$  плазматических клеток в костном мозге. Иллюстративный очень хороший частичный ответ (VGPR) можно определить по dFLC  $<40$  мг/л. Иллюстративный частичный ответ (PR) можно определить по уменьшению dFLC на  $\geq 50\%$ . В почках ответ на лечение может быть определен, например, по снижению  $\geq 50\%$  (например,  $>0,5$  г/24 ч) экскреции белка в суточной моче при отсутствии снижения eGFR на  $\geq 25\%$  или повышения сывороточного креатина на  $\geq 0,5$  мг/дл. В печени ответ на лечение может быть определен, например, по уменьшению на  $\geq 50\%$  первоначально повышенного уровня щелочной фосфатазы или уменьшению на  $\geq 2$  см размера печени при КТ или МРТ. В сердце ответ на лечение может быть определен, например, по снижению NT-proBNP на  $>30\%$  и  $>300$  нг/л у пациентов с исходным уровнем NT-proBNP  $>650$  нг/л. В почках ответ на лечение может быть определен, например, по уменьшению протеинурии  $>30\%$  или снижению протеинурии до  $<0,5$  г/24 ч при отсутствии прогрессирования почечной недостаточности. Пациенты с невропатией обычно отличаются увеличением NIS-LL на  $<2$  пункта от исходного уровня. Улучшение при невропатии (например, улучшение функции нервной системы) определяют по уменьшению NIS-LL в сравнении с исходным уровнем.

Для облегчения или уменьшения интенсивности одного или нескольких симптомов или эффектов, связанных с амилоидозом, можно проводить их лечение независимо друг от друга. Термин "независимо" означает, что антитело или состав антитела можно вводить в дозировке, достаточной для лечения одного или нескольких симптомов или эффектов (например, периферической невропатии), без лечения всех симптомов или эффектов или конкретных симптомов или эффектов (например, функции сердца, функции почек).

Некоторые пациенты либо ранее получали лечение, или одновременно получают лечение, или позже получают лечение при помощи одного или нескольких химиотерапевтических средств. Некоторые пациенты либо ранее получали лечение, или одновременно получают лечение, или позже получают лечение при помощи одного или нескольких антител. Некоторые пациенты либо ранее получали лечение, или одновременно получают лечение, или позже получают лечение с помощью комбинированной терапии.

Некоторым пациентам была сделана аутогенная трансплантация. Некоторые пациенты могли получать комбинированные методы лечения. Некоторые пациенты могут быть выбраны для лечения в соответствии со способами, раскрытыми в настоящем документе, только в том случае, если они ранее получали лечение с помощью альтернативной терапии.

Однако некоторым пациентам может быть противопоказано лечение одним или несколькими химиотерапевтическими средствами, антителами, аутогенной трансплантацией, комбинированной терапией или их комбинацией. Например, лечащий врач может предполагать, что конкретное лечение или режим введения дозы лекарственного средства, требуемые для достижения желаемого эффекта, окажут больше вредных эффектов на функцию почек пациента, чем любая ожидаемая польза.

#### Схемы лечения.

Лечение в соответствии со способами, раскрытыми в данном документе, обычно предусматривает введение пациенту нескольких доз антитела в течение некоторого периода времени. Антитела можно вводить пациенту, например, внутривенно в виде фармацевтического состава в диапазоне доз от приблизительно 10 мг до приблизительно 5000 мг, например приблизительно 10 мг, приблизительно 30 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 1000 мг, приблизительно 2000 мг или приблизительно 2500 мг. Антитела также можно вводить внутривенно в диапазоне доз от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг или от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг в зависимости от массы тела пациента. Например, дозировки могут составлять приблизительно 0,5 мг/кг веса тела, приблизительно 1,0 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 2,0 мг/кг, приблизительно 4,0 мг/кг, приблизительно 5,0 мг/кг, приблизительно 8,0 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 16 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 24 мг/кг, приблизительно 25 мг/кг или приблизительно 30 мг/кг веса тела. Эскалация для отдельного пациента может происходить по усмотрению лечащего врача при отсутствии какого-либо клинически значимого явления, которое, по

обоснованному предположению лечащего врача, может повлечь за собой чрезмерную угрозу безопасности пациента, например негематологическая токсичность  $\geq 3$  степени, тошнота, рвота или диарея  $\geq 3$  степени, неконтролируемые максимальной противорвотной/противодиарейной терапией, нейтропения 4 степени, продолжающаяся  $> 7$  дней при отсутствии поддержки фактора роста, нейтропения 3 или 4 степени любой продолжительности, сопровождающаяся лихорадкой  $\geq 38,5^\circ\text{C}$  и/или системная инфекция, или другая гематологическая токсичность степени  $\geq 4$ .

Антитела обычно вводят пациенту в несколько приемов. Иллюстративная схема лечения предусматривает введение один раз в две недели, один раз в месяц или один раз каждые 3-6 месяцев. Например, пациенты могут получать антитело (например, в виде внутривенного состава) один раз каждые четыре недели в виде цикла, например каждые двадцать восемь дней. Частоту дозирования можно регулировать в зависимости от фармакокинетического профиля антитела у пациента. Например, время полужизни антитела может служить основанием для двухнедельной частоты дозирования. В некоторых способах два или более антитела с разными специфичностями связывания можно вводить одновременно, и в этом случае доза каждого вводимого антитела попадает в указанные диапазоны. Интервалы между разовыми дозами могут составлять неделю, месяц или год. Интервалы также могут быть нерегулярными в зависимости от уровней антител в крови и других клинических признаков. В некоторых способах дозировку корректируют для достижения концентрации антител в плазме приблизительно 1-1000 мкг/мл или приблизительно 25-300 мкг/мл. В альтернативных вариантах антитела можно вводить в виде состава с замедленным высвобождением, и в этом случае требуется менее частое введение. Антитела можно вводить пациенту в течение по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев или в течение более длительного периода времени для достижения желаемого результата.

Дозировка и частота варьируются в зависимости от времени полужизни антитела у пациента. В общем человеческие антитела показывают самое длительное время полужизни, затем гуманизированные антитела, химерные антитела и не являющиеся человеческими антитела. Дозировка и частота введения могут варьироваться в зависимости от того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим. В профилактических целях относительно небольшую дозу вводят через относительно нечастые интервалы в течение длительного периода времени. Некоторые пациенты продолжают получать лечение всю оставшуюся жизнь. В терапевтических целях иногда требуется относительно высокая доза с относительно короткими интервалами до тех пор, пока прогрессирование заболевания не уменьшится или не прекратится, пока не будет достигнут частичный или полный ответ, и/или пока у пациента не наступит облегчение или уменьшение интенсивности симптомов заболевания. После этого пациенту может быть назначен профилактический режим.

Продолжительность схемы лечения зависит от заболевания, которое подлежит лечению, возраста и состояния пациента, стадии и типа заболевания у пациента, реакции пациента на лечение и т.д. Лечащий врач может внимательно наблюдать за эффектами терапии и проводить любые корректировки по мере необходимости. Когда средства используют в комбинации, два или более терапевтических средства вводят одновременно или последовательно в любом порядке, т.е. антитело, раскрытое в данном документе, вводят до введения второго терапевтического средства, одновременно со вторым терапевтическим средством или после введения второго терапевтического средства. Например, комбинированная терапия может быть выполнена путем введения первого терапевтического средства перед (например, за 1, 5, 15, 30, 45 мин, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96 ч, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 или 12 недель до), одновременно с или после (например, 1, 5, 15, 30, 45 мин, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96 ч, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 или 12 недель после) введения второго терапевтического средства.

Дозировку, частоту и способ введения каждого компонента комбинированной терапии можно контролировать независимо. Например, одно терапевтическое средство можно вводить перорально три раза в день, в то время как второе терапевтическое средство можно вводить внутримышечно один раз в день. Комбинированная терапия может проводиться циклами включения и выключения, которые включают периоды отдыха. Соединения можно также смешивать или иным образом составлять вместе, так чтобы одно введение обеспечивало доставку обоих терапевтических средств. В этом случае каждое терапевтическое средство обычно присутствует в количестве 1-95% по весу от общего веса композиции. В альтернативном варианте терапевтические средства могут быть составлены отдельно и в индивидуально дозированных количествах. Комбинации терапевтических средств для лечения могут быть предоставлены в составе фармацевтической упаковки.

Предпочтительно, чтобы комбинированная терапия вызывала синергетический терапевтический эффект, т.е. эффект, превышающий сумму индивидуальных эффектов или терапевтических результатов, таких как описанные выше. Например, синергетический терапевтический эффект может быть эффектом по меньшей мере приблизительно в два раза большим, чем сумма терапевтических эффектов, вызываемых отдельными средствами данной комбинации, или по меньшей мере приблизительно в пять раз больше, или по меньшей мере приблизительно в десять раз больше, или по меньшей мере приблизительно в двадцать раз больше, или по меньшей мере приблизительно в пятьдесят раз больше, или по меньшей мере приблизительно в сто раз больше. Синергетический терапевтический эффект также может наблю-

даться как увеличение терапевтического эффекта по меньшей мере на 10% по сравнению с суммой терапевтических эффектов, вызываемых отдельными средствами данной комбинации, или по меньшей мере на 20%, или по меньшей мере на 30%, или по меньшей мере на 40%, или по меньшей мере на 50%, или по меньшей мере на 60%, или по меньшей мере на 70%, или по меньшей мере на 80%, или по меньшей мере на 90%, или по меньшей мере на 100%, или более. Синергетический эффект также является эффектом, который позволяет снизить дозировку терапевтических средств, когда они используются в комбинации.

### Примеры

Следующие примеры были предусмотрены для иллюстрации аспектов раскрытых здесь способов. Некоторые аспекты следующих примеров описаны применительно к методике и процедурам, которые получены или рассмотрены соавторами настоящего изобретения для практического использования, раскрытого в данном документе. В свете настоящего раскрытия и общего уровня квалификации в данной области специалистам в данной области должно быть понятно, что следующие примеры предназначены только для иллюстрации и многочисленные изменения, модификации и перемены могут быть использованы не выходя за рамки объема раскрытия.

Пример 1. Биоинформационный анализ AL-ассоциированных последовательностей легких цепей.

Наличие различных аминокислот в позициях 81 и 82 во всем репертуаре генов зародышевых линий VK и VL человека определили путем применения системы нумерации Кабата к последовательностям легких цепей из базы данных ImMunoGeneTics (IMGT) и выравнивания аминокислотных последовательностей с помощью инструмента MegAlign программного обеспечения LaserGene DNA.

Частота генных подтипов и аллелей, преобладающих у пациентов с амилоидозом AL, была определена с помощью биоинформационного анализа опубликованных в AL базе последовательностей легких цепей (Бостонский университет) и целого ряда публикаций. Для идентификации генного подтипа и аллеля была использована система нумерации Кабата и программный инструмент IMGT/DomainGapAlign.

Преобладающая аминокислотная последовательность в позициях 81 и 82, идентифицированная с помощью этого биоинформационного анализа, была -ED-, которая была идентифицирована в 77,89% проанализированных легких цепей. -GD- была второй по частоте последовательностью, хотя и гораздо менее распространенной, чем -ED-, и была идентифицирована в 11,58% проанализированных легких цепей. Также были идентифицированы -MD-, -DD- и -EA-.

Пример 2. Иммунологическая реактивность NEOD001 и 2A4 относительно пептидов X<sub>1</sub>EDX<sub>2</sub> и X<sub>1</sub>GDX<sub>2</sub>.

Планшеты для ELISA покрывали пептидами, имеющими аминокислотную последовательность HEDT (SEQ ID NO: 19), AEDS (SEQ ID NO: 20) или HGDT (SEQ ID NO: 21), блокировали и анализировали с помощью NEOD001 (антитело с легкой цепью, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и тяжелой цепью, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14) или 2A4 (регистрационный номер ATCC 9662), как указано. После промывания применяли соответствующие вторичные антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена. Затем планшет промывали и обрабатывали о-фенилендиаменом и считывали оптическую плотность при 490 нм.

Как представлено на фиг. 1, оба NEOD001 и 2A4 связывают все три пептида. Таким образом, эти антитела связывают обе аминокислотные последовательности X<sub>1</sub>EDX<sub>2</sub> и X<sub>1</sub>GDX<sub>2</sub>, присутствующие в легких цепях иммуноглобулина.

Пример 3. Определение подтипов легких цепей в образцах ткани амилоидоза AL, связанных при помощи NEOD001 и 2A4.

19 Свежезамороженных образцов от пациентов с AL были обработаны до растворимых и нерастворимых образцов, а связывание 2A4 оценивали с помощью электрохемилюминесцентного (ECL) иммуноанализа. Результаты показаны на фиг. 2. Впоследствии на образцах была проведена масс-спектрометрия с лазерным захватом и микродиссекцией (LCM-MS). Образцы окрашивали Конго красным для локализации амилоидных отложений, и отложения иссекали микродиссекцией с лазерным захватом. Изолированные отложения распарафинировали и растворяли перед анализом и секвенированием с помощью LCM-MS. Остатки эпитопа определяли непосредственно с помощью LCM-MS. Результаты представлены в таблице.



```

<223> 2A4 VL CDR3
<400> 3
Ser Gln Ser Thr His Val Pro Phe Thr
1          5
<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> Домовая мышь
<220>
<223> 2A4 VH CDR1
<400> 4
Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Tyr
1          5          10
<210> 5
<211> 19
<212> PRT
<213> Домовая мышь
<220>
<223> 2A4 VH CDR2
<400> 5
Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser
1          5          10          15
Val Lys Asp
<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> Домовая мышь
<220>
<223> 2A4 VH CDR3
<400> 6
Pro Tyr Ser Asp Ser Phe Ala Tyr
1          5
<210> 7
<211> 112
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Вариант 1 вариабельной области гуманизированной легкой цепи 2A4
<400> 7
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1          5          10          15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
          20          25          30
Thr Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
          35          40          45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
          50          55          60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Leu Lys Ile
65          70          75          80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
          85          90          95
Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100          105          110
<210> 8
<211> 112
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Вариант 2 вариабельной области гуманизированной легкой цепи 2A4
<400> 8
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1          5          10          15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

```

20 25 30  
 Thr Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser  
 85 90 95  
 Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 9

<211> 112

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариант 3 вариабельной области гуманизированной легкой цепи 2A4

<400> 9

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser  
 20 25 30  
 Thr Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser  
 85 90 95  
 Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 10

<211> 119

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариант 1 вариабельной области гуманизированной тяжелой цепи 2A4

<400> 10

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Tyr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp  
 50 55 60  
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser  
 65 70 75 80  
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
 85 90 95  
 Tyr Cys Val Arg Pro Tyr Ser Asp Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 11

<211> 119

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Вариант 2 вариабельной области гуманизированной тяжелой цепи 2A4

<400> 11

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

```

1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
                20           25           30
Ala Met Tyr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
                35           40           45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp
                50           55           60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65           70           75           80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85           90           95
Tyr Cys Val Arg Pro Tyr Ser Asp Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
                100           105           110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
                115
<210> 12
<211> 119
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Вариант 3 вариабельной области гуманизированной тяжелой цепи 2A4
<400> 12
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
                20           25           30
Ala Met Tyr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
                35           40           45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp
                50           55           60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65           70           75           80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85           90           95
Tyr Cys Ala Arg Pro Tyr Ser Asp Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
                100           105           110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
                115
<210> 13
<211> 219
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Гуманизированная легкая каппа-цепь 2A4
<400> 13
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1           5           10           15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
                20           25           30
Thr Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
                35           40           45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
                50           55           60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65           70           75           80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
                85           90           95
Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                100           105           110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
                115           120           125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
                130           135           140

```

## 044759

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 145 150 155 160  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 165 170 175  
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
 180 185 190  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 195 200 205  
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215  
 <210> 14  
 <211> 449  
 <212> PRT  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Вариант 2 Гуманизированной тяжелой цепи 2A4 IgG1 (аллотип G1m3)  
 <400> 14  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Tyr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp  
 50 55 60  
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Lys Asn Ser  
 65 70 75 80  
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
 85 90 95  
 Tyr Cys Ala Arg Pro Tyr Ser Asp Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 115 120 125  
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu  
 130 135 140  
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
 145 150 155 160  
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
 165 170 175  
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
 180 185 190  
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
 195 200 205  
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
 210 215 220  
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 225 230 235 240  
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 245 250 255  
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 260 265 270  
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 275 280 285  
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 290 295 300  
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 305 310 315 320  
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 325 330 335  
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 340 345 350  
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 370 375 380  
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 385 390 395 400  
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415  
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430  
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445

Lys

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 660

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Последовательность гуманизированного антитела, содержащая остатки  
 мыши и человека (Hu2A4 VH3VL3 hcg1, последовательность кДНК k - последова-  
 тельность легкой цепи без сигнала)

&lt;400&gt; 15

```

gacgtggtga tgaccagtc ccctctgtcc ctgcctgtga cccctggcga gcctgcctcc      60
atctcctgcc ggctcctccca gtccctgggtg cactccaccg gcaacaccta tctgcactgg      120
tatctgcaga agcctggcca gtctcctcag ctgctgatct acaagggtgtc caaccgggttc      180
tccggcgtgc ctgaccggtt ctctggctcc ggctccggca ccgacttcac cctgaagatc      240
tcccgggtgg aggccgagga cgtgggcgtg tactactgct cccagtccac ccacgtgcct      300
ttcaccttcg gcggaggtac caaggtggag atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc      360
ttcatctacc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg      420
ctgaataact tctatccsag agagggcaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa      480
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc      540
agcagcaccs tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa      600
gtcaccscatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag      660

```

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 726

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Последовательность гуманизированного антитела, содержащая остатки  
 мыши и человека

(Hu2A4 VH3VL3 hcg1,k последовательность кДНК - легкой цепи)

&lt;400&gt; 16

```

atggacatgc ggggtgcccgc acagctgctg ggctgctga tgctgtgggt gtccggctcc      60
tccggcgacg tggatgatgac ccagtcacct ctgtccctgc ctgtgacccc tggcgagcct      120
gcctccatct cctgcccggtc ctcccagtcct ctgggtgact ccaccggcaa cacctatctg      180
cactggatct tgacagaagcc tggccagttc cctcagctgc tgatctacaa ggtgtccaac      240
cggttctccg gcgtgcctga ccggttctct ggctccggct ccggcaccga ctccaccctg      300
aagatctccc ggggtggaggc cgaggacgtg ggctgctact actgctccca gtccaccsac      360
gtgcctttca ccttcggcgg aggcaccaag gtggagatca agcgaactgt ggctgcacca      420
tctgtcttca tcttcccgcc atctgatgag cagttgaaat ctggaactgc ctctgttgtg      480
tgctgctga ataacttcta tcccagagag gccaaagtac agtggaaggt ggataacgcc      540
ctccaatcgg gtaactccca ggagagtgtc acagagcagg acagcaagga cagcacctac      600
agcctcagca gcaccctgac gctgagcaaa gcagactacg agaaacacaa agtctacgcc      660
tgcaagtca cccatcaggg cctgagctcg cccgtcacia agagcttcaa caggggagag      720
tgtagg      726

```

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 1347

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Последовательность гуманизированного антитела, содержащая остатки  
 мыши и человека

(Hu2A4 VH3VL3 hcg1, k последовательность кДНК - последовательность  
 тяжелой цепи без сигнала)

&lt;400&gt; 17

gaagtgcaat	tggtcgagtc	cggcggaggc	ctggtgcagc	ctggcggctc	cctgagactg	60
tcctgcgccg	cctccggctt	caccttcaac	acctacgcc	tgtactggat	caggcaggct	120
cctggcaagg	gactggagtg	ggtggcccgg	atcaggtcca	agtccaaca	ctacgctatc	180
tactacgccg	actccgtgaa	ggaccggttc	accatctccc	gggacgactc	caagaactcc	240
ctgtatctgc	agatgaactc	cctgaaaacc	gaggacaccg	ccgtgtacta	ctgcgctcgg	300
ccttactccg	actccttcgc	ctactggggc	cagggcacc	tggtgaccgt	gagctcagcc	360
tccaccaagg	gtccatcggg	cttccccctg	gcaccctcct	ccaagagcac	ctctggggggc	420
acagcggccc	tgggctgcct	ggtcaaggac	tacttccccg	aaccggtgac	ggtgtcgtgg	480
aactcagggc	ccctgaccag	cggcgtgcac	accttccccg	ctgtcctaca	gtcctcagga	540
ctctactccc	tcagcagcgt	ggtgaccgtg	ccctccagca	gcttggggc	ccagacctac	600
atctgcaacg	tgaatcacaa	gcccagcaac	accaaggtgg	acaagagagt	tgagcccaaa	660
tcttgtgaca	aaactcacac	atgcccaccg	tgcccagcac	ctgaactcct	ggggggaccg	720
tcagtcttcc	tcttcccccc	aaaaccocaag	gacaccctca	tgatctcccc	gaccctcag	780
gtcacatgcg	tggtggtgga	cgtgagccac	gaagaccctg	aggccaagtt	caactggtac	840
gtggacggcg	tggaggtgca	taatgccaag	acaagccgc	gggaggagca	gtacaacagc	900
acgtaccgtg	tggtcagcgt	cctcaccgtc	ctgcaccagg	actggctgaa	tggcaaggag	960
tacaagtgca	aggctctcaa	caaagccctc	ccagccccc	tcgagaaaac	catctccaaa	1020
gccaaagggc	agccccgaga	accacaggtg	tacaccctgc	ccccatccc	ggaggagatg	1080
accaagaacc	aggctcagcct	gacctgcctg	gtcaaaggct	tctatcccag	cgacatcgcc	1140
gtggagtggg	agagcaatgg	gcagccggag	aacaactaca	agaccacgcc	tcccgtgctg	1200
gactccgacg	gctccttctt	cctctatagc	aagctcaccg	tggacaagag	caggtggcag	1260
caggggaacg	tcttctcatg	ctccgtgatg	catgaggctc	tgcaacaacca	ctacacgcag	1320
aagagcctct	ccctgtcccc	gggtaaa				1347

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 1404

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Последовательность гуманизированного антитела, содержащая остатки  
мышь и человека

(Hu2A4 VH3VL3 hcg1, к последовательность кДНК - тяжелой цепи)

&lt;400&gt; 18

atggagttcg	gcctgtcctg	gctgttctctg	gtggccatcc	tgaagggcgt	gcagtgcgaa	60
gtgcaattgg	tcgagtccgg	cggaggcctg	gtgcagcctg	gcccctccct	gagactgtcc	120
tgcccccct	ccggcttcac	cttcaacacc	tacgccatgt	actggatcag	gcaggctcct	180
ggcaagggac	tggagtgggt	ggcccggatc	aggccaagt	ccaacaacta	cgctatctac	240
tacgccgact	ccgtgaagga	ccggttcacc	atctcccggg	acgactccaa	gaactccctg	300
tatctgcaga	tgaactccct	gaaaaccgag	gacaccgccg	tgtactactg	cgctcggcct	360
tactccgact	ccttcgccta	ctggggccag	ggcaccctgg	tgaccgtgag	ctcagcctcc	420
accaagggtc	catcggctct	ccccctggca	ccctcctcca	agagcacctc	tgggggcaca	480
gcccgcctgg	gctgcctggt	caaggactac	ttccccgaac	cgggtgacgg	gtcgtggaac	540
tcaggcgcct	tgaccagcgg	cgtgcacacc	ttcccggctg	tcctacagtc	ctcaggactc	600
tactccctca	gcagcgtggt	gaccgtgccc	tcagcagct	tgggcaccca	gacctacatc	660
tgcaacgtga	atcacaaacc	cagcaaacacc	aaggtggaca	agagagttga	gccccaaatc	720
tgtgacaaaa	ctcacacatg	cccaccgtgc	ccagcacctg	aactcctggg	gggaccgtca	780
gtcttctct	tcccccaaaa	acccaaggac	accctcatga	tctcccggac	ccctgaggtc	840
acatgcgtgg	tggtggacgt	gagccacgaa	gaccctgagg	tcaagttcaa	ctgggtacgtg	900
gacggcgtgg	agggtgcataa	tgccaagaca	aagccgcggg	aggagcagta	caacagcacg	960
taccgtgtgg	tcagcgtcct	caccgtcctg	caccaggact	ggctgaatgg	caaggagtac	1020
aagtgcagg	tctccaacaa	agccctccca	gccccatcg	agaaaaccat	ctccaaagcc	1080
aaagggcagc	cccgagaacc	acaggtgtac	accctgcccc	catcccggga	ggagatgacc	1140
aagaaccagg	tcagcctgac	ctgcctggtc	aaaggcttct	atcccagcga	catcgccgtg	1200
gagtgaggaga	gcaatgggca	gcccggagaac	aactacaaga	ccacgcctcc	cgctgctggac	1260
tccgacggct	ccttcttctt	ctatagcaag	ctcaccgtgg	acaagagcag	gtggcagcag	1320
gggaacgtct	tctcatgctc	cgtgatgcat	gaggctctgc	acaaccacta	cacgcagaag	1380
agcctctccc	tgtccccggg	taaa				1404

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 4

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Последовательность легкой цепи иммуноглобулина

<400> 19  
 His Glu Asp Thr  
 1  
 <210> 20  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Последовательность легкой цепи иммуноглобулина  
 <400> 20  
 Ala Glu Asp Ser  
 1  
 <210> 21  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Последовательность легкой цепи иммуноглобулина  
 <400> 21  
 His Gly Asp Thr  
 1

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения пациента, страдающего амилоидозом AL, связанным с отложением неправильно свернутых белков легкой цепи иммуноглобулина, имеющих аминокислотную последовательность глицин-аспартат GD в позициях 81-82 (нумерация по Кабату), включающий введение эффективной дозы химерного или гуманизированного антитела, способного специфически связывать неправильно свернутые белки легкой цепи иммуноглобулина, имеющие аминокислотную последовательность глицин-аспартат GD в позициях 81-82 (нумерация по Кабату), содержащего вариабельную область легкой цепи, содержащую три определяющих комплементарность области, представленные SEQ ID NO: 1, 2 и 3, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую три определяющих комплементарность области, представленные SEQ ID NO: 4, 5 и 6.

2. Способ по п.1, в котором антитело содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 8 или 9, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, 11 или 12.

3. Способ по п.1, в котором антитело содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

4. Способ по п.1, в котором антитело содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

5. Способ по п.1, в котором антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент антитела, выбранный из группы, состоящей из Fab-, Fab'-, F(ab')<sub>2</sub>-, F(ab)<sub>c</sub>- или Fv-фрагмента.

6. Способ по п.1, в котором эффективную дозировку антитела вводят в виде фармацевтического состава, содержащего

а) антитело в концентрации в диапазоне от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл;  
 б) гистидиновый буфер в концентрации в диапазоне от приблизительно 20 мМ до приблизительно 30 мМ;

с) трегалозу в концентрации в диапазоне от приблизительно 210 мМ до приблизительно 250 мМ; и  
 д) полисорбат 20 в концентрации в диапазоне от приблизительно 0,005% по массе до приблизительно 0,05% по массе,

при этом фармацевтический состав отличается рН в диапазоне от приблизительно 6 до приблизительно 7.

7. Способ по п.6, в котором

а) антитело присутствует в концентрации приблизительно 50 мг/мл;

б) гистидиновый буфер присутствует в концентрации приблизительно 25 мМ;

с) трегалоза присутствует в концентрации приблизительно 230 мМ;

д) полисорбат 20 присутствует в концентрации приблизительно 0,2 г/л,

при этом рН составляет приблизительно 6,5.

8. Способ по п.1, в котором эффективная дозировка составляет от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг, а антитело вводят внутривенно или подкожно с частотой от приблизительно один раз в неделю до приблизительно один раз в три месяца.

9. Способ по п.1, в котором эффективная дозировка составляет 24 мг/кг, а антитело вводят внутривенно каждые 28 дней.

10. Способ по п.8, в котором продолжительность лечения - это период времени, необходимый для достижения эффекта от лечения.

11. Способ по п.9, в котором продолжительность лечения - это период времени, необходимый для достижения эффекта от лечения.

12. Применение химерного или гуманизированного варианта антитела, способного специфически связывать неправильно свернутые белки легкой цепи иммуноглобулина, имеющие аминокислотную последовательность глицин-аспартат GD в позициях 81-82 (нумерация по Кабату), содержащего вариabельную область легкой цепи, содержащую три определяющих комплементарность области, представленные SEQ ID NO: 1, 2 и 3, и вариabельную область тяжелой цепи, содержащую три определяющих комплементарность области, представленные SEQ ID NO: 4, 5 и 6, для лечения амилоидоза AL, связанного с отложением неправильно свернутых белков легкой цепи иммуноглобулина, имеющих аминокислотную последовательность глицин-аспартат GD в позициях 81-82 (нумерация по Кабату).

13. Применение по п.12, в котором антитело содержит вариabельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 8 или 9, и вариabельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, 11 или 12.

14. Применение по п.12, в котором антитело содержит вариabельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и вариabельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

15. Применение по п.12, в котором антитело содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

16. Применение по п.12, в котором антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент антитела, выбранный из группы, состоящей из Fab-, Fab'-, F(ab')<sub>2</sub>-, F(ab)c- или Fv-фрагмента.

17. Применение по п.12, в котором эффективную дозировку антитела вводят в виде фармацевтического состава, содержащего

- a) антитело в концентрации в диапазоне от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл;
  - b) гистидиновый буфер в концентрации в диапазоне от приблизительно 20 mM до приблизительно 30 mM;
  - c) трегалозу в концентрации в диапазоне от приблизительно 210 mM до приблизительно 250 mM; и
  - d) полисорбат 20 в концентрации в диапазоне от приблизительно 0,005% по массе до приблизительно 0,05% по массе,
- при этом фармацевтический состав отличается pH в диапазоне от приблизительно 6 до приблизительно 7.

18. Применение по п.17, в котором

- a) антитело присутствует в концентрации приблизительно 50 мг/мл;
  - b) гистидиновый буфер присутствует в концентрации приблизительно 25 mM;
  - c) трегалоза присутствует в концентрации приблизительно 230 mM;
  - d) полисорбат 20 присутствует в концентрации приблизительно 0,2 г/л,
- при этом pH составляет приблизительно 6,5.

19. Применение по п.12, в котором антитело можно вводить пациенту внутривенно или подкожно в количестве от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг с частотой от приблизительно один раз в неделю до приблизительно один раз в три месяца.

20. Применение по п.12, в котором антитело можно вводить пациенту внутривенно в количестве приблизительно 24 мг/кг каждые 28 дней.

21. Применение по п.19, в котором антитело можно вводить в течение периода времени, необходимого для достижения эффекта от лечения.

22. Применение по п.20, в котором антитело можно вводить в течение периода времени, необходимого для достижения эффекта от лечения.

23. Применение химерного или гуманизированного варианта антитела, способного специфически связывать неправильно свернутые белки легкой цепи иммуноглобулина, имеющие аминокислотную последовательность глицин-аспартат GD в позициях 81-82 (нумерация по Кабату), содержащего вариabельную область легкой цепи, содержащую три определяющих комплементарность области, представленные SEQ ID NO: 1, 2 и 3, и вариabельную область тяжелой цепи, содержащую три определяющих комплементарность области, представленные SEQ ID NO: 4, 5 и 6, в производстве лекарственного средства для лечения амилоидоза AL, связанного с отложением неправильно свернутых белков легкой цепи иммуноглобулина, имеющих аминокислотную последовательность глицин-аспартат GD в позициях 81-82 (нумерация по Кабату).

24. Применение по п.23, в котором антитело содержит вариabельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 8 или 9, и вариabельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, 11 или 12.

25. Применение по п.23, в котором антитело содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

26. Применение по п.23, в котором антитело содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

27. Применение по п.23, в котором антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент антитела, выбранный из группы, состоящей из Fab-, Fab'-, F(ab')<sub>2</sub>-, F(ab)<sub>3</sub>- или Fv-фрагмента.

28. Применение по п.23, в котором эффективную дозировку антитела вводят в виде фармацевтического состава, содержащего

а) антитело в концентрации в диапазоне от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 100 мг/мл;  
 б) гистидиновый буфер в концентрации в диапазоне от приблизительно 20 мМ до приблизительно 30 мМ;

в) трегалозу в концентрации в диапазоне от приблизительно 210 мМ до приблизительно 250 мМ; и

д) полисорбат 20 в концентрации в диапазоне от приблизительно 0,005% по массе до приблизительно 0,05% по массе,

при этом фармацевтический состав отличается рН в диапазоне от приблизительно 6 до приблизительно 7.

29. Применение по п.28, в котором

а) антитело присутствует в концентрации приблизительно 50 мг/мл;

б) гистидиновый буфер присутствует в концентрации приблизительно 25 мМ;

в) трегалоза присутствует в концентрации приблизительно 230 мМ;

д) полисорбат 20 присутствует в концентрации приблизительно 0,2 г/л,

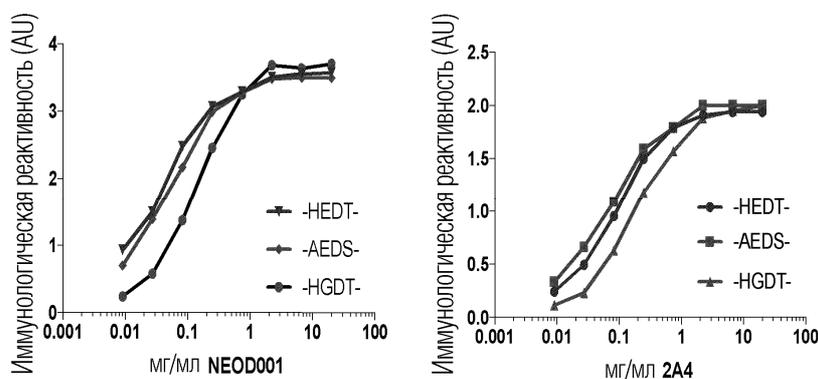
при этом рН составляет приблизительно 6,5.

30. Применение по п.23, в котором антитело можно вводить пациенту внутривенно или подкожно в количестве от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг с частотой от приблизительно один раз в неделю до приблизительно один раз в три месяца.

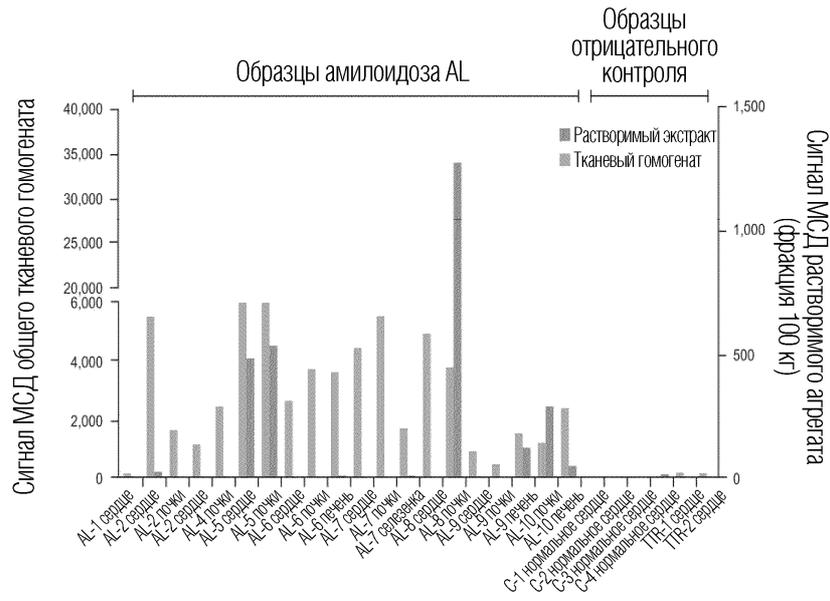
31. Применение по п.23, в котором антитело можно вводить пациенту внутривенно в количестве приблизительно 24 мг/кг каждые 28 дней.

32. Применение по п.30, в котором антитело можно вводить в течение периода времени, необходимого для достижения эффекта от лечения.

33. Применение по п.31, в котором антитело можно вводить в течение периода времени, необходимого для достижения эффекта от лечения.



Фиг. 1



ID пациента  
Фиг. 2

