

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202390754** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
**2023.06.08**

(51) Int. Cl. **C07K 1/22 (2006.01)**

(22) Дата подачи заявки  
**2021.10.04**

---

(54) **СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА КЛЕТКИ-ХОЗЯИНА В СПОСОБАХ  
ОЧИСТКИ АНТИТЕЛА И КОМПОЗИЦИИ АНТИТЕЛА СО СНИЖЕННЫМ  
СОДЕРЖАНИЕМ БЕЛКА КЛЕТКИ-ХОЗЯИНА**

---

(31) **63/086,915**

(32) **2020.10.02**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/053407**

(87) **WO 2022/072934 2022.04.07**

(71) Заявитель:

**ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)**

(72) Изобретатель:

**Боувс Брайан Дэвид, Кребс Лара  
Эллен, Ричер Сара М., Хуан Лихуа,  
Пличта Стивен А. (US)**

(74) Представитель:

**Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина  
Е.М., Угрюмов В.М., Строкова О.В.,  
Костюшенкова М.Ю., Джермакян Р.В.  
(RU)**

---

(57) Изобретение относится к способам снижения содержания белка клетки-хозяина в препарате антитела, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, в способе изготовления антител, предназначенных для введения пациенту. Раскрытые способы могут быть осуществлены для получения препаратов терапевтических антител со сниженным содержанием белка клетки-хозяина.

---

**A1**

**202390754**

**202390754**

**A1**

## **СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА КЛЕТКИ-ХОЗЯИНА В СПОСОБАХ ОЧИСТКИ АНТИТЕЛА И КОМПОЗИЦИИ АНТИТЕЛА СО СНИЖЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ БЕЛКА КЛЕТКИ-ХОЗЯИНА**

5 Настоящее изобретение относится к области изготовления рекомбинантного белка. Более конкретно, согласно настоящему изобретению предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, в способе изготовления белков, предназначенных для введения пациенту, таких как терапевтические или диагностические антитела или их  
10 антигенсвязывающие фрагменты. Раскрытые способы могут быть осуществлены для получения композиций антитела со сниженным содержанием белка клетки-хозяина.

Белки клетки-хозяина (НСП) представляют собой белки клеток-хозяев, которые участвуют в поддержании и росте клеток, а также в синтезе и процессинге белков. Однако в области терапевтических или диагностических белков присутствие НСП угрожает  
15 качеству продукта и безопасности пациентов, вызывая такие проблемы как агрегация, фрагментация продукта в результате каталитической активности и/или иммуногенность. Следовательно, НСП идентифицируют как критический показатель качества (CQA) белковых составов. Образование нецелевых агрегатов и фрагментация продукта требуют дополнительных этапов очистки для снижения/удаления НСП, и эти дополнительные  
20 этапы очистки часто приводят к снижению выхода целевого белка и увеличению общих затрат на изготовление.

Раскрыты сложности устранения НСП из способов изготовления и попытки усовершенствовать способы, чтобы снизить содержание НСП, например, как изложено в Gilgunn et al; Goey et al., *Biotechnology Advances* 36 (2018) 1223–1237; и *Current Opinion in*  
25 *Chemical Engineering* 2018, 22:98–106. Однако эти способы удаления НСП имеют ограничения. Например, в некоторых случаях эти раскрытия демонстрируют одно или более из неполного удаления НСП, расхождения в способах удаления НСП, приводящего к агрегации, совместной очистки целевых белков и НСП, нарушения функции продукта, проблем с иммуногенностью у пациентов, и/или сниженных фармакокинетических  
30 свойств, таких как период полужизни. Кроме того, способы, разработанные для удаления НСП, часто требуют, например, необходимости работать с увеличенными объемами и дополнительными этапами очистки, что часто приводит к увеличению затрат на изготовление и снижению выхода. В некоторых случаях применимость способа ограничена конкретной молекулой и/или форматом. Таким образом, остается потребность  
35 в альтернативных способах снижения содержания НСП в способе очистки

терапевтических или диагностических белков. С помощью таких альтернативных способов снижают содержание НСР, предпочтительно без влияния на стабильность, выход или стоимость продукта, чтобы в конечном итоге сохранить качество продукта, и они пригодны для крупномасштабного изготовления и гарантируют безопасность 5 пациентов.

Соответственно, настоящее изобретение направлено на решение одной или более из вышеперечисленных проблем путем обеспечения альтернативных способов снижения содержания НСР в препарате терапевтических или диагностических антител или их антигенсвязывающих фрагментов. Способы согласно настоящему изобретению 10 обеспечивают воспроизводимые способы, которые являются высокоэффективными в удалении НСР, сохраняя при этом стабильность антитела, снижая агрегацию, поддерживая выход продукта, и могут снижать риск иммуногенности. С помощью таких способов можно эффективно удалять НСР без потребности в увеличении объема препарата антитела. Способы согласно настоящему изобретению неожиданно обеспечили 15 количество НСР, которое значительно ниже приемлемых для промышленности стандартов <100 м.д. Другие варианты реализации настоящего изобретения неожиданно обеспечили количество НСР <50 м.д., сохраняя при этом стабильность белка, снижая агрегацию и поддерживая выход продукта. Более неожиданно, другие варианты реализации настоящего изобретения обеспечили количество НСР <20 м.д., <10 м.д., <5 20 м.д., <1 м.д. или ~0 м.д., сохраняя при этом стабильность белка, снижая агрегацию и поддерживая выход продукта. Кроме того, согласно вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы удаления НСР, которые применимы к широкому кругу молекул. Другие варианты реализации настоящего изобретения позволяют исключить дополнительные этапы очистки, что приводит к сокращению времени обработки партии и 25 уменьшению затрат на изготовление. Раскрытые способы могут быть осуществлены для получения композиций антитела со сниженным содержанием белка клетки-хозяина, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в композициях антитела составляет менее <100 м.д., <50 м.д., <10 м.д., <5 м.д., <1 м.д. или ~0 м.д.

Соответственно, предложены способы снижения содержания белка клетки-хозяина 30 в препарате антитела к N3pGlu A $\beta$  («антитело к N3pG»). Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pG рекомбинантно продуцируется в клетке-хозяине млекопитающего, такой как клетка-хозяин яичника китайского хомяка.

Соответственно, согласно конкретным вариантам реализации предложен способ 35 снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего,

включающий обработку белкового препарата, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине, на колонке для аффинной хроматографии, элюирование антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты, повышение рН элюата до примерно рН 5,0 или выше (например, примерно рН 6,0 или выше, или примерно рН 7,0 или выше), обработку элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ. Согласно некоторым вариантам реализации ионная сила элюата с этапа повышения рН до примерно рН 5,0 или выше составляет от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ. Предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено. Более предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено до менее чем примерно 100 м.д., до менее чем примерно 50 м.д., до менее чем примерно 20 м.д., до менее чем примерно 10 м.д., до менее чем примерно 5 м.д. или до менее чем примерно 1 м.д.

Соответственно, согласно конкретным вариантам реализации предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, включающий обработку белкового препарата, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине, на колонке для аффинной хроматографии, элюирование антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты, выполнение вирусной инактивации, повышение рН элюата до примерно рН 5,0 или выше (например, примерно рН 6,0 или выше, или примерно рН 7,0 или выше), обработку элюата, содержащего белок, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ. Согласно некоторым вариантам реализации ионная сила элюата с этапа повышения рН до примерно рН 5,0 или выше составляет от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ. Предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено. Более предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено до менее чем примерно 100 м.д., до менее чем примерно 50 м.д., до менее чем примерно 20 м.д., до менее чем примерно 10 м.д., до менее чем примерно 5 м.д. или до менее чем примерно 1 м.д.

Соответственно, согласно конкретным вариантам реализации предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, включающий обработку белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ,

полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, на колонке для аффинной хроматографии, элюирование антитела к N3pGlu Aβ из колонки для хроматографии буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты, причем указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанная сильная кислота представляет собой фосфорную кислоту или молочную кислоту, доведение рН элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, с указанного этапа элюирования антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки до рН ниже примерно 4,0, и при этом указанный элюат поддерживают при рН ниже примерно 4,0 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, повышение рН элюата до примерно рН 5,0 или выше (например, примерно рН 6,0 или выше, или примерно рН 7,0 или выше), обработку элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ. Согласно некоторым вариантам реализации ионная сила элюата с этапа повышения рН до примерно рН 5,0 или выше составляет от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ.

15 Предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено. Более предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено до менее чем примерно 100 м.д., до менее чем примерно 50 м.д., до менее чем примерно 20 м.д., до менее чем примерно 10 м.д., до менее чем примерно 5 м.д. или до менее чем примерно 1

20 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в настоящем раскрытии предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, включающий обработку белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, на колонке для аффинной хроматографии, элюирование антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты, причем указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанная сильная кислота представляет собой фосфорную кислоту, при этом концентрация указанной уксусной кислоты составляет примерно 20 мМ, и при этом концентрация указанной фосфорной кислоты составляет от примерно 5 мМ до примерно 10 мМ, доведение рН элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, с указанного этапа элюирования антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки до рН ниже примерно 4,0, и при этом указанный элюат поддерживают при рН ниже примерно 4,0 в течение от примерно 0 минут до примерно

30

35

180 минут, повышение рН элюата до примерно рН 5,0 или выше (например, примерно рН 6,0 или выше, или примерно рН 7,0 или выше), обработку элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ. Согласно некоторым вариантам реализации ионная  
5 сила элюата с этапа повышения рН до примерно рН 5,0 или выше составляет от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ. Предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено. Более предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено до менее чем примерно 100 м.д., до менее чем примерно 50 м.д., до менее  
10 чем примерно 20 м.д., до менее чем примерно 10 м.д., до менее чем примерно 5 м.д. или до менее чем примерно 1 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в настоящем раскрытии предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, полученном рекомбинантным путем в  
15 клетке-хозяине млекопитающего, включающий обработку белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, на колонке для аффинной хроматографии, элюирование антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты, причем указанная слабая кислота  
20 представляет собой уксусную кислоту, и указанная сильная кислота представляет собой молочную кислоту, при этом концентрация указанной уксусной кислоты составляет примерно 20 мМ, и при этом концентрация указанной молочной кислоты составляет примерно 5 мМ, доведение рН элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, с указанного этапа элюирования антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки до рН ниже  
25 примерно 4,0, и при этом указанный элюат поддерживают при рН ниже примерно 4,0 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, повышение рН элюата до примерно рН 5,0 или выше (например, примерно рН 6,0 или выше, или примерно рН 7,0 или выше), обработку элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ.  
30 Согласно некоторым вариантам реализации ионная сила элюата с этапа повышения рН до примерно рН 5,0 или выше составляет от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ. Предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено. Более предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено до менее чем  
35 примерно 100 м.д., до менее чем примерно 50 м.д., до менее чем примерно 20 м.д., до

менее чем примерно 10 м.д., до менее чем примерно 5 м.д. или до менее чем примерно 1 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего раскрытия предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu A $\beta$ , полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, включающий обработку белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu A $\beta$ , полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, на колонке для аффинной хроматографии, элюирование антитела к N3pGlu A $\beta$  из колонки для хроматографии буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты, причем указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанная сильная кислота представляет собой фосфорную кислоту или молочную кислоту, доведение pH элюата, содержащего антитело к N3pGlu A $\beta$ , с указанного этапа элюирования антитела к N3pGlu A $\beta$  из хроматографической колонки, при этом указанный этап доведения pH элюата включает добавление примерно 20 мМ HCl к элюату, при этом указанный pH элюата доводят до уровня от примерно pH 3,3 до примерно pH 3,7, и при этом указанный элюат поддерживают при pH от примерно 3,3 до примерно pH 3,7 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, повышение pH элюата до примерно pH 5,0 или выше (например, примерно pH 6,0 или выше, или примерно pH 7,0 или выше), обработку элюата, содержащего антитело к N3pGlu A $\beta$ , на глубинном фильтре и получение отфильтрованного белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu A $\beta$ . Согласно некоторым вариантам реализации ионная сила элюата с этапа повышения pH до примерно pH 5,0 или выше составляет от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ. Предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu A $\beta$ , снижено. Более предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu A $\beta$ , снижено до менее чем примерно 100 м.д., до менее чем примерно 10 м.д., до менее чем примерно 5 м.д. или менее примерно 1 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего раскрытия предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu A $\beta$ , полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, включающий обработку белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu A $\beta$ , полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, на колонке для аффинной хроматографии, элюирование антитела к N3pGlu A $\beta$  из колонки для хроматографии буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты, причем указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и

указанная сильная кислота представляет собой фосфорную кислоту или молочную кислоту, доведение рН элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, с указанного этапа элюирования антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки, при этом указанный этап доведения рН элюата включает добавление примерно 20 мМ HCl к элюату, при этом  
5 указанный рН элюата доводят до примерно рН 3,5, и при этом указанный элюат поддерживают при примерно рН 3,5 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, повышение рН элюата до примерно рН 5,0 или выше (например, примерно рН 6,0 или выше, или примерно рН 7,0 или выше), обработку элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного белкового препарата,  
10 содержащего антитело к N3pGlu Aβ. Согласно некоторым вариантам реализации ионная сила элюата с этапа повышения рН до примерно рН 5,0 или выше составляет от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ. Предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено. Более предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu  
15 Aβ, снижено до менее чем примерно 100 м.д., до менее чем примерно 10 м.д., до менее чем примерно 5 м.д. или менее чем примерно 1 м.д.

Согласно некоторым конкретным вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, полученном рекомбинантным путем в клетке-  
20 хозяине, включающий обработку белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине, на колонке для аффинной хроматографии, элюирование антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты, причем указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанная сильная кислота  
25 представляет собой фосфорную кислоту или молочную кислоту, доведение рН элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, с указанного этапа элюирования антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки до рН ниже примерно 4,0, и при этом указанный элюат поддерживают при рН ниже примерно 4,0 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, повышение рН элюата до уровня от примерно рН 5,0 до примерно  
30 рН 7,5, включающее добавление к элюату примерно 250 мМ трис-буфера, и обработку элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ. Согласно некоторым вариантам реализации повышение рН элюата до уровня от примерно рН 5,0 до примерно рН 7,5 включает добавление к элюату от примерно 100 мМ до примерно 1000  
35 мМ трис-буфера. Согласно некоторым вариантам реализации ионная сила элюата с этапа

повышения рН выше уровня от примерно рН 5,0 до примерно рН 7,5 составляет от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ. Предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено. Более предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено до менее чем примерно 100 м.д., до менее чем примерно 10 м.д., до менее чем примерно 5 м.д. или менее чем примерно 1 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего раскрытия предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, включающий обработку белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, на колонке для аффинной хроматографии, элюирование антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты, причем указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанная сильная кислота представляет собой фосфорную кислоту или молочную кислоту, доведение рН элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, с указанного этапа элюирования антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки до рН ниже примерно 4,0, и при этом указанный элюат поддерживают при рН ниже примерно 4,0 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, повышение рН элюата до примерно рН 7,0, включающее добавление к элюату примерно 250 мМ трис-буфера, обработку элюата, содержащего антитело, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного препарата антитела. Согласно некоторым вариантам реализации повышение рН элюата до уровня от примерно рН 6,5 до примерно рН 7,5 (например, примерно рН 7,0) включает добавление к элюату от примерно 100 мМ до примерно 1000 мМ трис-буфера. Согласно некоторым вариантам реализации ионная сила элюата с этапа повышения рН до уровня от примерно рН 6,5 до примерно рН 7,5 (например, примерно рН 7,0) составляет от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ. Предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено. Более предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено до менее чем примерно 100 м.д., до менее чем примерно 10 м.д., до менее чем примерно 5 м.д. или менее чем примерно 1 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, включающий обработку белкового препарата, содержащего антитело к

N3pGlu Aβ, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, на колонке для аффинной хроматографии, элюирование антитела к N3pGlu Aβ из колонки для хроматографии буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты, причем указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и 5 указанная сильная кислота представляет собой фосфорную кислоту или молочную кислоту, доведение pH элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, с указанного этапа элюирования антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки до pH ниже примерно 4,0, и при этом указанный элюат поддерживают при pH ниже примерно 4,0 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, повышение pH элюата до примерно 10 pH 5,0 или выше (например, примерно pH 6,0 или выше, или примерно pH 7,0, или выше), 10 обработку элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, при этом указанный элюат, обработанный на глубинном фильтре, имеет ионную силу от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ. Предпочтительно содержание белка клетки-хозяина 15 в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено. Более предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено до менее чем примерно 100 м.д., до менее чем примерно 10 м.д., до менее чем примерно 5 м.д. или менее чем примерно 1 м.д.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего раскрытия предложен 20 способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, включающий обработку белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, на колонке для аффинной хроматографии, элюирование антитела к N3pGlu Aβ из 25 хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты, причем указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанная сильная кислота представляет собой фосфорную кислоту или молочную кислоту, доведение pH элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, с указанного этапа элюирования антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки до 30 pH ниже примерно 4,0, и при этом указанный элюат поддерживают при pH ниже примерно 4,0 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, и при этом обеспечивается вирусная инактивация.

Согласно настоящему изобретению предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, полученном 35 рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, включающий обработку

белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, на колонке для аффинной хроматографии, элюирование антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты, причем указанная слабая кислота включает уксусную кислоту в концентрации примерно 20 мМ, и причем указанная сильная кислота включает любую из фосфорной кислоты, муравьиной кислоты или молочной кислоты, и при этом концентрация указанной сильной кислоты составляет от примерно 5 мМ до примерно 10 мМ, доведение рН элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, с указанного этапа элюирования антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки, при этом указанный этап доведения рН элюата включает добавление к элюату любой из HCl, фосфорной кислоты, лимонной кислоты, уксусной кислоты или их комбинации (например, комбинации уксусной кислоты и фосфорной кислоты или комбинации уксусной кислоты и лимонной кислоты), при этом указанный рН доводят до рН ниже примерно 4,0, и при этом указанный элюат поддерживают при рН ниже примерно 4,0 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, повышение рН элюата до уровня от примерно рН 5,0 до примерно рН 7,5, обработку элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ. Согласно некоторым вариантам реализации ионная сила элюата с этапа повышения рН до уровня от примерно рН 5,0 до примерно 7,5 составляет от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ.

Предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено. Более предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено до менее чем примерно 100 м.д., до менее чем примерно 10 м.д., до менее чем примерно 5 м.д. или менее чем примерно 1 м.д.

Согласно дополнительным вариантам реализации этап элюирования включает буфер для элюирования, состоящий из комбинации любой из уксусной кислоты и фосфорной кислоты, уксусной кислоты и молочной кислоты или уксусной кислоты и муравьиной кислоты, и при этом указанный этап доведения рН ниже примерно рН 4,0 включает добавление любой из HCl, фосфорной кислоты, лимонной кислоты, уксусной кислоты или их комбинации (например, комбинации уксусной кислоты и фосфорной кислоты или комбинации уксусной кислоты и лимонной кислоты). Согласно дополнительным вариантам реализации этап элюирования включает буфер для элюирования, содержащий комбинацию любой из примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 10 мМ фосфорной кислоты, примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 5

мМ фосфорной кислоты или примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 5 мМ муравьиной кислоты, и при этом указанный этап доведения рН ниже примерно рН 4,0 включает добавление любой из примерно 20 мМ HCl, от примерно 15 мМ до примерно 200 мМ фосфорной кислоты, примерно 1000 мМ лимонной кислоты или комбинации примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 10 мМ фосфорной кислоты. Согласно таким вариантам реализации ионная сила элюата с этапа повышения рН выше рН примерно 6,0 составляет от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, включающий этапы:

обработки белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, на колонке для аффинной хроматографии;

элюирования антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию слабой кислоты и сильной кислоты; причем указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанная сильная кислота представляет собой фосфорную кислоту или молочную кислоту;

доведения рН элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, с указанного этапа элюирования антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки до рН ниже примерно 4,0, при этом указанный элюат поддерживают при рН ниже примерно 4,0 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут;

повышения рН элюата до примерно рН 5,0 или выше (например, примерно рН 6,0 или выше, или примерно рН 7,0 или выше);

обработки элюата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, на глубинном фильтре, и получения отфильтрованного белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ.

Предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено. Более предпочтительно содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ, снижено до менее чем примерно 100 м.д., до менее чем примерно 10 м.д., до менее чем примерно 5 м.д. или менее чем примерно 1 м.д.

Согласно дополнительному варианту реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате,

содержащем антитело к N3pGlu Aβ, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, характеризующийся тем, что указанный способ включает этапы:

- а) обработки белкового препарата на колонке для аффинной хроматографии;
- б) элюирования антитела к N3pGlu Aβ из хроматографической колонки с получением элюата, содержащего указанное антитело к N3pGlu Aβ;
- в) доведения, при необходимости, pH элюата до уровня от pH 5,0 до pH 7,5, обработки элюата на глубинном фильтре и получения отфильтрованного белкового препарата, содержащего антитело к N3pGlu Aβ, причем указанный глубинный фильтр представляет собой полностью синтетический глубинный фильтр.

Предпочтительно хроматографическая колонка включает колонку для аффинной хроматографии с белком А, белком G или белком L. Также предпочтительно размер пор глубинного фильтра составляет по меньшей мере от примерно 9 мкм (микрон) до примерно 0,1 мкм. Еще более предпочтительно размер пор глубинного фильтра составляет по меньшей мере от примерно 2 мкм до примерно 0,1 мкм. Еще более предпочтительно размер пор глубинного фильтра составляет примерно 0,1 мкм. Еще более предпочтительно глубинный фильтр представляет собой фильтр XOSP. Согласно альтернативному варианту реализации pH элюата на глубинном фильтре составляет примерно 5,0. Согласно другому альтернативному варианту реализации pH элюата на глубинном фильтре составляет примерно 6,0. Согласно другому альтернативному варианту реализации pH элюата на глубинном фильтре составляет примерно 7,0.

Указанный конкретный вариант реализации охватывает способы, в которых антитело к N3pG элюируют из колонки для аффинной хроматографии любыми обычно используемыми слабыми или сильными кислотами, включая, но не ограничиваясь перечисленными, уксусную кислоту, лимонную кислоту, фосфорную кислоту, соляную кислоту, муравьиную кислоту и молочную кислоту.

Было обнаружено, что использование полностью синтетического фильтра при pH раствора на фильтре от 5,0 до 7,0 весьма эффективно для снижения содержания и/или удаления НСР по сравнению с более традиционными фильтрами на основе целлюлозы/диатомовой земли.

Раскрытые способы могут быть осуществлены для снижения содержания белков клетки-хозяина (НСР) в препарате, содержащем антитело к N3pGlu Aβ или его антигенсвязывающий фрагмент, для получения композиции антитела со сниженным содержанием НСР. Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pGlu Aβ представляет собой моноклональное антитело, химерное антитело, гуманизированное

антитело, человеческое антитело, биспецифичное антитело или фрагмент антитела. Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pGlu A $\beta$  представляет собой антитело IgG1 или содержит часть Fc антитела IgG1. В настоящей заявке раскрыто антитело к SARS-COV-2.

5 Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых способов и композиций, полученных раскрытыми способами, антитело к N3pG представляет собой донанемаб. Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pG содержит переменную область легкой цепи (LH), содержащую определяющий комплементарность участок 1 LH (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, которые представлены в аминокислотной последовательности  
10 DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSKLDS  
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:  
13); и антитело к N3pG содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую определяющий комплементарность участок 1 VH (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, которые  
представлены в аминокислотной последовательности  
15 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGN  
TKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGITVYWGQGTITVTVSS  
(SEQ ID NO:14).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pG содержит LCDR1, имеющий KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO:17), LCDR2, имеющий AVSKLDS (SEQ ID  
20 NO:18), LCDR3, имеющий VQGTHYPFT (SEQ ID NO:19), HCDR1, имеющий  
GYDFTRYIN (SEQ ID NO:20), HCDR2, имеющий WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID  
NO:21), и HCDR3, имеющий EGITVY (SEQ ID NO:22).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pG содержит переменную легкую цепь (LC), состоящую из аминокислотной последовательности  
25 DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSKLDS  
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:  
13), и переменную тяжелую цепь (HC), состоящую из аминокислотной  
последовательности  
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGN  
30 TKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGITVYWGQGTITVTVSS  
(SEQ ID NO:14).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pG содержит легкую  
цепь (LC), состоящую из аминокислотной последовательности  
DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSKLDS  
35 GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVF

IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL  
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 15), и тяжелую  
цепь (HC), состоящую из аминокислотной последовательности  
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGN  
5 TKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCAREGITVYWGQGTITVTVSSA  
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG  
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP  
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR  
10 DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK  
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 16).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pG содержит легкую  
цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность, кодируемую  
последовательностью ДНК  
15 gatattgatgactcagactccactctcctgtccgtcaccctggacagccggcctccatctcctgcaagtcaagtcagagcctcttatata  
gtcgcggaaaaacctattgaattggctcctcagaagccaggccaatctccacagctcctaattatgcggtgtctaaactggactctgggg  
tcccagacagattcagcggcagtggtcaggcacagattcacactgaaatcagcaggggtggaggccgaagatgtggggtttattactg  
cgtgcaaggtacacattaccattcagcttggccaagggaccaagctggagatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatctccc  
gccatctgatgagcagtgaaatctggaactgcctctgtgtgtgcctgctgaataactctatcccagagaggccaaagtaacagtggaaggt  
20 ggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctg  
acgctgagcaaaagcagactacgagaacacaaagtctacgcctgcgaagtcaccatcagggcctgagctcggcctcacaagagctt  
саасaggggagagtgc (SEQ ID NO: 33), и тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную  
последовательность, кодируемую последовательностью ДНК  
caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcagtgaaagtttctgcaaggcatctggttacgacttactag  
25 atactataaaactgggtgcgacagggcccctggacaagggcttgagtgatgggatggattaatcctggaagcggtaataactaagtacaatg  
agaaattcaaggcagagtcaccattaccgcgacgaatccagagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacagc  
gccgtgtattactgtgcgagagaaggcatcacggtctactggggccaaggaccaggtcaccgtctctcagcctccaccaagggccca  
tcggtctcccgtagcaccctctccaagagcacctctgggggcacagcggcctgggctgcctggtcaaggactactccccgaaccg  
gtgacggtgtcgtggaactcaggcggcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtctacagctcctcaggactctactcctcagca  
30 gcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaacaccaaggtggacaag  
aaagtgagcccaaatcttgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctggggggaccgtcagcttctcttccc  
cccaaaaccaaggacaccctcatgatctccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtagctgagccacgaagaccctgaggtca  
agttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatccaagacaagccgaggagcagtagacaacagcagctaccgtgtggtc  
agcgtctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaagccctcccagccccatcga  
35 gaaaaccatctcaaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtaccctgccccatcccgggacgagctgaccaagaacca

ggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactaca  
agaccacgcccccgctgctggactccgacggctccttctctctatagcaagctcacctggacaagagcaggtggcagcaggggaac  
gtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggt (SEQ ID NO:34).

Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых способов и композиции,  
5 полученной раскрытыми способами, антитело к N3pG представляет собой антитело,  
называемое «антитело 201с» в патенте США № 10647759, содержание которого  
полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки. Согласно некоторым  
вариантам реализации антитело к N3pG содержит переменную область легкой цепи  
(LH), содержащую определяющий комплементарность участок 1 LH (LCDR1), LCDR2 и  
10 LCDR3, которые представлены в аминокислотной последовательности  
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASTLESGVP  
SRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 23);  
и антитело к N3pG содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую  
определяющий комплементарность участок 1 VH (HCDR1), HCDR2 и HCDR3, которые  
15 представлены в аминокислотной последовательности  
EVQLLESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY  
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYWGQGT  
LVTVSS (SEQ ID NO:24).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pG содержит LCDR1,  
20 имеющий RASQSLGNWLA (SEQ ID NO: 27), LCDR2, имеющий YQASTLES (SEQ ID NO:  
28), LCDR3, имеющий QHYKGSFWT (SEQ ID NO: 29), HCDR1, имеющий  
AASGFTFSSYPMS (SEQ ID NO: 30), HCDR2, имеющий AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ  
ID NO: 31), и HCDR3, имеющий AREGGSGSYNGFDY (SEQ ID NO: 32).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pG содержит  
25 переменную легкую цепь (VL), состоящую из аминокислотной последовательности  
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASTLESGVP  
SRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 23),  
и переменную тяжелую цепь (VH), состоящую из аминокислотной последовательности  
EVQLLESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY  
30 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYWGQGT  
LVTVSS (SEQ ID NO:24).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pG содержит легкую  
цепь (LC), состоящую из аминокислотной последовательности  
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASTLESGVP  
35 SRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP

SDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSST  
LTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 25), и тяжелую цепь  
(HC), состоящую из аминокислотной последовательности  
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKLEWVSAISGSGGSTY  
5 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYWGQGT  
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP  
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA  
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK  
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQV  
10 YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS  
KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 26).

Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pG содержит легкую  
цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность, кодируемую  
последовательностью ДНК

15 gacatccagatgaccagctcctccacccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactggccggccagtcagagctcttggaac  
tggtggcctggtatcagcagaaccagggaagcccctaaactcctgatctatcaggcgtctactttagaatctgggggccatcaagattc  
agcggcagtggtatcgggacagagttcactctaccatcagcagcctgcagcctgatgatttgcaactattactgccaacattataaaggt  
cttttgacgttcggccaagggaccaaggtggaatcaaacggaccgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagt  
tgaatctggaactgcctctgtgtgctgctaataactctatcccagagaggccaaagtagtggaaggtggataacgcctccaat  
20 cgggtaactcccaggagagtgacacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaaagcag  
actacgagaacacaaagtctacgcctgcgaagtacccatcagggcctgagctcggccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgcc  
(SEQ ID NO: 35), и тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную  
последовательность, кодируемую последовательностью ДНК  
gaggtgcagctgttgagctctgggggaggcttggtacagcctggggggcctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccttagcag  
25 ctatcctatgagctgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtggtctcagctattagtggtagtggtgtagcacatactacgca  
gactccgtgaagggccggtcaccatctccagagacaattccaagaacagctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacagc  
gccgtatattactgtgcgagagagggggctcaggagttattataacggctttgattattggggccagggaacctggtcaccgtctcctca  
gcctccaccaagggccatcggctctcccgctagcaccctctccaagagcacctctgggggacagcggccctgggtgcctgtgta  
ggactactccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtctca  
30 ggacttactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagctgggacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagc  
aacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaatctgtgacaaaactcacatgcccaccgtgccagcacctgaactctgggggga  
ccgtcagcttctcttcccccaaaaccaaggacaccctcatgatctccggaccctgaggtcacatgcgtgggtggacgtgagcc  
acgaagaccctgaggtcaagtcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccggggaggagcagtaca  
cagcagctaccgtgtggtcagcgtcctaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtcaaggtctccaacaagc  
35 cctccagccccatcgagaaaaccatctcaaagccaaaggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggac

gagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggcaaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagagcaatgggca  
gccggagaacaactacaagaccacgcccccgctgctggactccgacggctccttctctctatagcaagctcaccgtggacaagagcag  
gtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggt  
(SEQ ID NO:36).

5 Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в препарате антитела к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, включающий этапы:

10 обработки препарата антитела к N3pG, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине, на колонке для аффинной хроматографии, например, на колонке для аффинной хроматографии с белком А;

элюирования антитела к N3pG буфером, содержащим комбинацию уксусной кислоты и фосфорной кислоты или комбинацию уксусной кислоты и молочной кислоты;

15 доведения pH элюата, содержащего антитело к N3pG, путем добавления примерно 20 mM HCl, причем указанный pH доводят до уровня от примерно pH 3,3 до примерно pH 3,7, и при этом указанный элюат поддерживают при pH от примерно pH 3,3 до примерно pH 3,7 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут;

повышения pH элюата, содержащего антитело к N3pG, путем добавления примерно 250 mM трис-буфера, при этом указанный pH повышают до уровня от примерно pH 5,0 до примерно pH 7,5;

20 обработки элюата, содержащего антитело к N3pG, на глубинном фильтре и получения отфильтрованного препарата антитела к N3pG,

причем содержание белка клетки-хозяина в указанном препарате антитела к N3pG после глубинной фильтрации снижено до менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д., и при этом указанное антитело к N3pG представляет собой антитело IgG1.

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в настоящем раскрытии предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в препарате антитела к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, включающий обработку препарата антитела к N3pG, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине, на хроматографической колонке с белком А, элюирование антитела к N3pG из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию примерно 20 mM уксусной кислоты и примерно 5 mM фосфорной кислоты, или буфером, содержащим комбинацию примерно 20 mM уксусной кислоты и примерно 10 mM фосфорной кислоты, или буфером, содержащим комбинацию примерно 20 mM уксусной кислоты и примерно 5  
35 mM молочной кислоты, доведение pH элюата, содержащего антитело к N3pG, путем

добавления примерно 20 мМ HCl, при этом указанный рН снижается до уровня от примерно рН 3,3 до примерно рН 3,7, и при этом указанный элюат поддерживают при рН от примерно 3,3 до примерно рН 3,7 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, повышение рН элюата, содержащего антитело к N3pG, путем добавления примерно 250 мМ Трис-буфера, при этом указанный рН повышают до уровня от примерно рН 5,0 до примерно рН 7,5, обработку элюата, содержащего антитело к N3pG, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного препарата антитела к N3pG, при этом содержание белка клетки-хозяина в указанном отфильтрованном препарате антитела к N3pG составляет менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д., и при этом указанное антитело к N3pG представляет собой антитело IgG1. Согласно некоторым вариантам реализации повышение рН элюата до уровня от примерно рН 5,0 до примерно рН 7,5 включает добавление к элюату от примерно 100 мМ до примерно 1000 мМ трис-буфера.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в настоящем раскрытии предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в препарате антитела к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, включающий обработку препарата антитела к N3pG, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине, на хроматографической колонке с белком А, элюирование антитела к N3pG из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 5 мМ фосфорной кислоты, или буфером, содержащим комбинацию примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 10 мМ фосфорной кислоты, или буфером, содержащим комбинацию примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 5 мМ молочной кислоты, доведение рН элюата, содержащего антитело к N3pG, используя примерно 20 мМ HCl, при этом указанный рН доводят до примерно рН 3,5, и при этом указанный элюат поддерживают при примерно рН 3,5 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, повышение рН элюата, содержащего антитело к N3pG, с использованием примерно 250 мМ Трис-буфера, при этом указанный рН повышают до уровня от примерно рН 5,0 до примерно рН 7,5, обработку элюата, содержащего антитело к N3pG, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного препарата антитела к N3pG, при этом содержание белка клетки-хозяина в указанном отфильтрованном препарате антитела к N3pG составляет менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д., и при этом указанное антитело к N3pG представляет собой антитело IgG1. Согласно некоторым вариантам реализации повышение рН элюата до уровня от примерно рН 5,0 до примерно рН 7,5 включает добавление к элюату от примерно 100 мМ до примерно 1000 мМ трис-буфера.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в настоящем раскрытии предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в препарате антитела к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, включающий обработку препарата антитела к N3pG, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, на хроматографической колонке с белком А, элюирование антитела к N3pG из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 5 мМ фосфорной кислоты, или буфером, содержащим комбинацию примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 10 мМ фосфорной кислоты, или буфером, содержащим комбинацию примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 5 мМ молочной кислоты, доведение рН элюата, содержащего антитело к N3pG, путем добавления примерно 20 мМ HCl, при этом указанный рН снижается до примерно рН 3,5, и при этом указанный элюат поддерживают при примерно рН 3,5 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, и при этом обеспечивается вирусная инактивация.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в настоящем раскрытии предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в препарате антитела к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, включающий обработку препарата антитела к N3pG, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине, на хроматографической колонке с белком А, элюирование антитела к N3pG из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 5 мМ фосфорной кислоты, или буфером, содержащим комбинацию примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 10 мМ фосфорной кислоты, или буфером, содержащим комбинацию примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 5 мМ молочной кислоты, доведение рН элюата, содержащего антитело к N3pG, путем добавления примерно 20 мМ HCl, при этом указанный рН снижается до уровня от примерно рН 3,3 до примерно рН 3,7, и при этом указанный элюат поддерживают при рН от примерно 3,3 до примерно рН 3,7 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут, повышение рН элюата, содержащего антитело к N3pG, с использованием примерно 250 мМ Трис-буфера, при этом указанный рН повышают до примерно рН 7,25, обработку элюата, содержащего антитело к N3pG, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного препарата антитела к N3pG, при этом содержание белка клетки-хозяина в указанном препарате антитела к N3pG составляет менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д., и при этом указанное антитело к N3pG представляет собой антитело IgG1. Согласно некоторым вариантам реализации повышение рН элюата

до примерно рН 7,25 включает добавление к элюату от примерно 100 мМ до примерно 1000 мМ трис-буфера.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в настоящем раскрытии предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в препарате антитела к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, включающий 5 обработку препарата антитела к N3pG, полученного рекомбинантным путем в клетке-хозяине, на хроматографической колонке с белком А, элюирование антитела к N3pG из хроматографической колонки буфером, содержащим комбинацию примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 5 мМ фосфорной кислоты, или буфером, содержащим 10 комбинацию примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 5 мМ фосфорной кислоты, или буфером, содержащим комбинацию примерно 20 мМ уксусной кислоты и примерно 5 мМ молочной кислоты, доведение рН элюата, содержащего антитело к N3pG, путем добавления примерно 20 мМ HCl, при этом указанный рН снижается до примерно рН 3,5, и при этом указанный элюат поддерживают при примерно рН 3,5 в течение от примерно 0 15 минут до примерно 180 минут, повышение рН элюата, содержащего антитело к N3pG, путем добавления примерно 250 мМ Трис-буфера, при этом указанный рН повышают до примерно рН 7,25, обработку элюата, содержащего антитело к N3pG, на глубинном фильтре и получение отфильтрованного препарата антитела к N3pG, при этом содержание 20 белка клетки-хозяина в указанном препарате антитела к N3pG составляет менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д., и при этом указанное антитело к N3pG представляет собой антитело IgG1. Согласно некоторым вариантам реализации повышение рН элюата до примерно рН 7,25 включает добавление к элюату от примерно 100 мМ до примерно 1000 мМ трис-буфера.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены 25 способы снижения содержания белка клетки-хозяина в препарате антитела к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине.

Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых способов и композиций антитела, полученных раскрытыми способами, антитело представляет собой антитело против спайк-белка коронавируса внезапного острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2). Согласно некоторым вариантам реализации антитело к SARS-CoV-2 30 рекомбинантно продуцируется в клетке-хозяине млекопитающего, такой как клетка яичника китайского хомяка. Подходящие антитела к SARS-CoV-2 могут включать, но не ограничиваются перечисленными, бамланивимаб, этесевимаб и бибтеловимаб. Согласно некоторым вариантам реализации антитело к SARS-CoV-2 представляет собой 35 бамланивимаб. Согласно некоторым вариантам реализации антитело к SARS-COV-2

содержит переменную тяжелую цепь (VH), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную легкую цепь (VL), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. Согласно некоторым вариантам реализации антитела к SARS-COV-2 содержит тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, и легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4. Согласно другим вариантам реализации антитела к SARS-COV-2 представляет собой этесевимаб. Согласно другим вариантам реализации антитела к SARS-COV-2 содержит переменную тяжелую цепь (VH), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, и переменную легкую цепь (VL), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6. Согласно другим вариантам реализации антитела к SARS-COV-2 содержит тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. Согласно некоторым вариантам реализации антитела к SARS-COV-2 представляет собой бббтеловимаб. Согласно другим вариантам реализации антитела к SARS-COV-2 содержит переменную тяжелую цепь (VH), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и переменную легкую цепь (VL), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. Согласно другим вариантам реализации антитела к SARS-COV-2 содержит тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12.

Согласно некоторым вариантам реализации терапевтическое или диагностическое антитело продуцируется в клетках млекопитающих. Согласно некоторым вариантам реализации клетка млекопитающего представляет собой клетки яичника китайского хомяка (CHO) или клетки почки детеныша хомяка (ВНК), клетки мышины гибридомы или клетки мышины миеломы.

Согласно некоторым вариантам реализации предложены способы, характеризующиеся тем, что в указанном способе снижения содержания белка клетки-хозяина в препарате антитела, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, после обработки на глубинном фильтре дополнительно выполняют дальнейшие этапы очистки и/или заключительной очистки с получением препарата лекарственного вещества. Лекарственное вещество определяется Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) как активный ингредиент, который предназначен для обеспечения фармакологической активности или другого прямого эффекта при диагностике, санации, облегчении, лечении или профилактике заболевания,

или для воздействия на структуру или любую функцию организма человека, но не содержит промежуточных соединений, используемых в синтезе такого ингредиента. Лекарственный продукт представляет собой готовую лекарственную форму, которая подходит для введения пациентам-людям, например, таблетку, капсулу или раствор, которая (который) содержит лекарственное вещество, как правило, но не обязательно, в сочетании с одним или более другими ингредиентами. Согласно некоторым вариантам реализации дополнительный этап очистки и/или заключительной очистки включает одно или более из следующего: выполнение вирусной инактивации, выполнение ионообменной хроматографии, выполнение вирусной фильтрации и/или выполнение фильтрации с тангенциальным потоком.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает PLBL2, и при этом содержание указанного PLBL2 снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание PLBL2 снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание PLBL2 снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание PLBL2 снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание PLBL2 снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем

антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает лизосомальный защитный белок, и при этом содержание указанного лизосомального защитного белка снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание лизосомального защитного белка снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание лизосомального защитного белка снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание лизосомального защитного белка снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание лизосомального защитного белка снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает белок S100-A6, и при этом содержание указанного белка S100-A6 снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка S100-A6 снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка S100-A6 снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка S100-A6 снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка S100-A6 снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает белок S100-A11, и при этом содержание указанного белка S100-A11 снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка S100-A11 снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка S100-A11 снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка S100-A11 снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка S100-A11 снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем

указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает убиквитин-40S рибосомный белок S27a, и при этом содержание указанного убиквитин-40S рибосомного белка S27a снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание убиквитин-40S рибосомного белка S27a снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание убиквитин-40S рибосомного белка S27a снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание убиквитин-40S рибосомного белка S27a снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание убиквитин-40S рибосомного белка S27a снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает калликреин-11, и при этом содержание указанного калликреина-11 снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание калликреина-11 снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание калликреина-11 снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание калликреина-11 снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание калликреина-11 снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает изоформу X1 сериновой протеазы HTRA1, и при этом содержание указанной изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1 снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1 снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1 снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1 снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1 снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем

антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает субкомпонент комплемента C1g, и при этом содержание указанного субкомпонента комплемента C1g снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание субкомпонента комплемента C1g снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание субкомпонента комплемента C1g снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание субкомпонента комплемента C1g снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание субкомпонента комплемента C1g снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает актин, изоформу X1 гладких мышц аорты, и при этом содержание указанного актина, изоформы X1 гладких мышц аорты, снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание актина, изоформы X1 гладких мышц аорты, снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание актина, изоформы X1 гладких мышц аорты, снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание актина, изоформы X1 гладких мышц аорты, снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание актина, изоформы X1 гладких мышц аорты, снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает когнатный белок теплового шока 71 кДа, и при этом содержание указанного когнатного белка теплового шока 71 кДа снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание когнатного белка теплового шока 71 кДа снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание когнатного белка теплового шока 71 кДа снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание когнатного белка теплового шока 71 кДа снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам

реализации содержание когнатного белка теплового шока 71 кДа снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем 5 указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает полиубиквитин, и при этом содержание указанного полиубиквитина снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание полиубиквитина снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам 10 реализации содержание полиубиквитина снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание полиубиквитина снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание полиубиквитина снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен 15 способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает пероксиредоксин-1, и при этом содержание указанного пероксиредоксина-1 снижено до 20 менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание пероксиредоксина-1 снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание пероксиредоксина-1 снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание пероксиредоксина-1 снижено до 25 менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание пероксиредоксина-1 снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен 30 способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает глутатион-S-трансферазу Y1, и при этом содержание указанной глутатион-S-трансферазы Y1 снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание глутатион-S-трансферазы Y1 снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание глутатион-S-трансферазы Y1 снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание глутатион-S-трансферазы Y1 снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно

другим вариантам реализации содержание глутатион-S-трансферазы Y1 снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем 5 указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает 40S рибосомный белок S28, и при этом содержание указанного 40S рибосомного белка S28 снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание 40S рибосомного белка S28 снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно 10 другим вариантам реализации содержание 40S рибосомного белка S28 снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание 40S рибосомного белка S28 снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание 40S рибосомного белка S28 снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем 15 указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает изоформу X1 тиоредоксина, и при этом содержание указанной изоформы X1 тиоредоксина снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание 20 изоформы X1 тиоредоксина снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание изоформы X1 тиоредоксина снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание изоформы X1 тиоредоксина снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим 25 вариантам реализации содержание изоформы X1 тиоредоксина снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем 30 указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает изоформу X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны, и при этом содержание указанной изоформы X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны, 35 снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание изоформы X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана,

специфического для базальной мембраны, снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание изоформы X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны, снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержания изоформы X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны, снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание изоформы X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны, снижено до примерно 0 м.д.

10 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает белок, подобный антигену тубулоинтерстициального нефрита, и при этом содержание

15 указанного белка, подобного антигену тубулоинтерстициального нефрита, снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка, подобного антигену тубулоинтерстициального нефрита, снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка, подобного антигену тубулоинтерстициального нефрита, снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно

20 другим вариантам реализации содержание белка, подобного антигену тубулоинтерстициального нефрита, снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание белка, подобного антигену тубулоинтерстициального нефрита, снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен

25 способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает галектин-1, и при этом содержание указанного галектина-1 снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание галектина-1 снижено до менее чем

30 примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание галектина-1 снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание галектина-1 снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание галектина-1 снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное содержание белка клетки-хозяина в белковом препарате включает корнифин-альфа, и при этом содержание указанного корнифина-альфа снижено до менее чем примерно 100 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание корнифина-альфа снижено до менее чем примерно 50 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание корнифина-альфа снижено до менее чем примерно 20 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание корнифина-альфа снижено до менее чем примерно 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. Согласно другим вариантам реализации содержание корнифина-альфа снижено до примерно 0 м.д.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанный белковый препарат подвергают глубинной фильтрации. Согласно некоторым вариантам реализации белковый препарат, содержащий антитело к N3pG, обрабатывают на глубинном фильтре, причем указанный глубинный фильтр представляет собой один или более из фильтра В1НС, фильтра X0SP, фильтра C0SP, фильтра X0НС, фильтра Emphaze™ AEX Hybrid Purifier или фильтра Zeta Plus (ZB Media) (например, фильтра Zeta Plus (60ZB05A), фильтра Zeta Plus (90ZB05A) или фильтра Zeta Plus (90ZB08A)) или глубинный фильтр с рабочими характеристиками, которые аналогичны таковым фильтра В1НС, фильтра X0SP, фильтра C0SP, фильтра X0НС, фильтра Emphaze™ AEX Hybrid Purifier или фильтра Zeta Plus (ZB Media) (например, фильтра Zeta Plus (60ZB05A), фильтра Zeta Plus (90ZB05A) или фильтра Zeta Plus (90ZB08A)).

Согласно некоторым вариантам реализации белковый препарат, содержащий антитело к N3pG, обрабатывают на глубинном фильтре, причем указанный глубинный фильтр представляет собой один или более из фильтра В1НС, фильтра X0НС или фильтра Zeta Plus (ZB Media) (например, фильтра Zeta Plus (60ZB05A), фильтра Zeta Plus (90ZB05A) или фильтра Zeta Plus (90ZB08A) или глубинный фильтр с рабочими характеристиками, которые аналогичны таковым фильтра В1НС, фильтра X0НС или фильтра Zeta Plus (ZB Media) (например, фильтра Zeta Plus (60ZB05A), фильтра Zeta Plus (90ZB05A) или фильтра Zeta Plus (90ZB08A)).

Согласно некоторым вариантам реализации белковый препарат, содержащий антитело к N3pG, обрабатывают на глубинном фильтре, причем указанный глубинный фильтр представляет собой один или более из фильтра X0SP, фильтра C0SP, фильтра

XOHC или фильтра Emphaze™ AEX Hybrid Purifier, или глубинный фильтр с рабочими характеристиками, которые аналогичны таковым фильтра X0SP, фильтра C0SP или фильтра Emphaze™ AEX Hybrid Purifier.

5 Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых способов глубинный фильтр, применяемый в указанных способах, представляет собой полностью синтетический глубинный фильтр, содержащий полностью синтетическую фильтрационную среду. Согласно некоторым вариантам реализации размер пор глубинного фильтра составляет от примерно 9 микрон до примерно 0,1 микрона. Согласно некоторым вариантам реализации размер пор глубинного фильтра составляет от примерно 10 2 микрон до примерно 0,1 микрона. Согласно некоторым вариантам реализации размер пор глубинного фильтра составляет примерно 0,1 микрона.

Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых способов рН белкового препарата, содержащего антитело к N3pG, который подвергают глубинной фильтрации, составляет примерно 5,0, и/или рН элюата, содержащего антитело к N3pG, после 15 глубинной фильтрации составляет примерно 5,0. Согласно другим вариантам реализации рН белкового препарата, содержащего антитело к N3pG, который подвергают глубинной фильтрации, составляет примерно 6,0, и/или рН элюата, содержащего антитело к N3pG, после глубинной фильтрации составляет примерно 6,0. Согласно другим вариантам реализации рН белкового препарата, содержащего антитело к N3pG, который подвергают 20 глубинной фильтрации, составляет примерно 7,0, и/или рН элюата, содержащего антитело к N3pG, после глубинной фильтрации составляет примерно 7,0.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, 25 в котором ионная сила элюата с этапа повышения рН до примерно 5,0 или выше (например, до примерно 6,0 или до примерно 7,0) составляет от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ. Согласно некоторым вариантам реализации ионная сила составляет менее чем примерно 30 мМ. Согласно некоторым вариантам реализации ионная сила составляет менее чем примерно 20 мМ. Согласно другим вариантам реализации ионная 30 сила составляет менее чем примерно 15 мМ.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы, в которых белковый препарат, содержащий антитело к N3pG, полученный рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, обрабатывают на хроматографической колонке. Согласно некоторым вариантам реализации 35 хроматографическая колонка представляет собой одну или более из аффинной колонки,

ионообменной колонки, колонки для гидрофобного взаимодействия, колонки с гидроксипатитом или колонки смешанного типа. Согласно некоторым вариантам реализации, колонка для аффинной хроматографии представляет собой колонку с белком А, колонку с белком G или колонку с белком L. Согласно другим вариантам реализации колонка для ионообменной хроматографии представляет собой анионообменную колонку или катионообменную колонку. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы, в которых НСР в достаточной степени удалены из конечного продукта.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pG, полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине, причем указанное антитело к N3pG представляет собой терапевтическое или диагностическое антитело. Согласно дополнительным вариантам реализации терапевтическое или диагностическое антитело к N3pG представляет собой моноклональное антитело, химерное антитело, гуманизированное антитело, человеческое антитело, биспецифичное антитело или фрагмент антитела.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложены фармацевтические композиции, содержащие белковый препарат, содержащий антитело к N3pG. Согласно дополнительным аспектам настоящего изобретения предложена композиция, полученная способами, описанными в настоящей заявке. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения предложена композиция, полученная способами, описанными в настоящей заявке, причем содержание белка клетки-хозяина в указанной композиции составляет менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д.

Термин «белки клетки-хозяина» (НСР) относится к белкам клеток-хозяев, которые участвуют в поддержании и росте клеток, а также в синтезе и процессинге белков. Некоторые НСР связаны с проблемами иммуногенности у пациентов, и со стороны регулирующих органов имеется требование о снижении содержания НСР для сведения к минимуму проблем иммуногенности. Одна из мощных методик анализа иммуногенности основана на инструментах иммуноинформатики, которые, как было показано, позволяют делать надежные прогнозы, полезные и валидированные при разработке как биотерапевтических средств, так и вакцин. Особое значение для иммуногенности, обусловленной НСР, имеет Т-клеточный путь, при котором антигенпрезентирующая клетка процессирует чужеродный белок на составляющие пептиды, некоторые из которых («эпитопы») распознаются белками главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) класса II и доставляются на поверхность клетки для проверки Т-клетками. Образование

тройного комплекса ГКГС:эпитоп:Т-клеточный рецептор вызывает первоначальный наивный ответ и может стимулировать последующую активацию и созревание В-клеток. Таким образом, многие исследования в области иммуноинформатики были направлены на высоконадежное предсказание предполагаемых Т-клеточных эпитопов (De Groot and Martin, Clin Immunol. 2009 May; 131(2):189-201, которая полностью включена в настоящую заявку посредством ссылки), и система EpiMatrix является одним из тщательно валидированных методов, основанных на профилях связывания пептид:ГКГС. В дополнение к идентификации отдельных эпитопов в белке с помощью EpiMatrix затем можно также оценить общий риск иммуногенности белка в соответствии с его плотностью эпитопов по сравнению с эталонными белками (De Groot and Martin, 2009). Общее эмпирическое правило при использовании инструмента EpiMatrix для прогнозирования иммуногенности заключается в том, что белки с оценкой +20 и выше несут повышенный риск иммуногенности, и поэтому желательно снизить содержание или устранить такие НСР из готового препарата.

Такие НСР, например, включают НСР из клеток яичника китайского хомяка (СНО), например, белок 2, подобный фосфолипазе В (PLBL2) (номер доступа в GenBank 354497505), S100-A6 (номер доступа в GenBank 354478978), белок S100-A11 (номер доступа в GenBank 354490016), лизосомальный защитный белок (номер доступа в GenBank 354476738), убиквитин-40S рибосомный белок S27a (номер доступа в GenBank 354483686), калликреин-11 (номер доступа в GenBank 625217455), изоформу X1 сериновой протеазы HTRA1 (номер доступа в GenBank 625222219), субкомпонент комплемента C1g (номер доступа в GenBank 625183025), актин, изоформу X1 гладких мышц аорты (номер доступа в GenBank 625206860), когнатный белок теплового шока 71 кДа (номер доступа в GenBank 350539823), пероксиредоксин-1 (номер доступа в GenBank 350537945), полиубиквитин (номер доступа в GenBank 346986309), глутатион-S-трансферазу Y1 (номер доступа в GenBank 354505868), 40S рибосомный белок S28 (номер доступа в GenBank 625218224), изоформу X1 тиоредоксина (номер доступа в GenBank 625209431), изоформу X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны (номер доступа в GenBank 625201352), белок, подобный антигену тубулоинтерстициального нефрита (номер доступа в GenBank 625188472), актин, неполную цитоплазматическую 2 изоформу X2 (номер доступа в GenBank 354497282), галектин-1 (номер доступа в GenBank 354496408), корнифин-альфа (номер доступа в GenBank 354504887). Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых способов содержание НСР, которое снижено в препаратах антитела, представляет собой содержание НСР, выбранных из S100-A6, белка S100-A11, белка 2,

подобного фосфолипазе В, лизосомального защитного белка, убиквитина-40S  
рибосомного белка S27a, калликреина-11, изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1,  
субкомпонента комплемента C1r, актина, изоформы X1 гладких мышц аорты, когнатного  
белка теплового шока 71 кДа и пероксиредоксина-1, а также их комбинаций. Раскрытые  
5 способы можно применять для получения композиций антитела, в которых содержание  
одного или более из S100-A6, белка S100-A11, белка 2, подобного фосфолипазе В,  
лизосомального защитного белка, убиквитина-40S рибосомного белка S27a, калликреина-  
11, изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1, субкомпонента комплемента C1r, актина,  
изоформы X1 гладких мышц аорты, когнатного белка теплового шока 71 кДа и  
10 пероксиредоксина-1 составляет менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5  
м.д., 2 м.д. и 1 м.д.

Из-за повышенного риска иммуногенности особенно желательно удалить НСР с  
оценкой EpiMatrix +20, такие как белок 2, подобный фосфолипазе В (PLBL2) (номер  
доступа в GenBank 354497505), S100-A6 (номер доступа в GenBank 354478978), белок  
15 S100-A11 (номер доступа в GenBank 354490016), лизосомальный защитный белок (номер  
доступа в GenBank 354476738). Другие НСР, такие как периредоксин-1, являются  
довольно устойчивыми и их трудно удалить из-за их склонности к коэлюции с  
представляющим интерес белком или антителом.

Термин «слабая кислота» относится к кислоте с самой низкой рКа  $> \sim 4$ . Примеры  
20 слабых кислот включают, но не ограничиваются ими, уксусную кислоту, янтарную  
кислоту и 2-(*N*-морфолино)этансульфоновую кислоту.

Термин «сильная кислота» относится к кислоте с самой низкой рКа  $< \sim 4$ . Примеры  
сильных кислот включают, но не ограничиваются ими, фосфорную кислоту, молочную  
кислоту, муравьиную кислоту, яблочную кислоту, малоновую кислоту, гликолевую  
25 кислоту, лимонную кислоту, винную кислоту и соляную кислоту.

Термин «валентность» относится к способности атома к объединению. Число  
связей, которые атом может образовать в составе соединения, выражается валентностью  
элемента. Термин «моновалентный» относится к атому, иону или химической группе с  
валентностью равной единице, которые, таким образом, могут образовывать одну  
30 ковалентную связь.

Термин «глубинный фильтр» относится к фильтрационному элементу, в котором  
используется пористая фильтрационная среда, которая удерживает частицы по всей среде  
(внутри среды и на среде), а не только на поверхности среды. Глубинные фильтры могут  
дополнительно обладать адсорбционными свойствами, обусловленными химическими  
35 свойствами материалов, из которых они состоят. Примеры коммерчески доступных

глубинных фильтров включают, но не ограничиваются перечисленными, фильтр В1НС, фильтр X0SP, фильтр C0SP, фильтр X0НС, фильтр Emphaze™ AEX Hybrid Purifier, фильтр Zeta Plus (60ZB05A), фильтр Zeta Plus (90ZB05A) и фильтр Zeta Plus (90ZB08A). Глубинный фильтр может представлять собой полностью синтетический глубинный  
5 фильтр, содержащий полностью синтетическую фильтрационную среду. Глубинный фильтр может иметь размер пор от примерно 9 микрон до примерно 0,1 микрона, от примерно 2 микрон до примерно 0,1 микрона или примерно 0,1 микрона. Термин «глубинная фильтрация» относится к процессу пропускания жидкого материала, который может быть гетерогенным или гомогенным, через глубинный фильтр.

10 Термин «ионная сила» применительно к раствору является мерой концентрации иона в этом растворе. Ионная сила ( $I$ ) является функцией концентрации соединения,  $c_i$ , и суммарного заряда,  $z_i$ , для всех соединений. Для определения ионной силы используют Формулу I.

$$I = \frac{1}{2} \sum_i c_i z_i^2 \quad (1)$$

15 «Препарат антитела» представляет собой материал или раствор, предназначенный для процесса или способа очистки, который содержит представляющее интерес терапевтическое или диагностическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и который также может содержать различные примеси. Неограничивающие примеры могут включать, например, собранную жидкость клеточной культуры (НССФ), собранный  
20 материал клеточной культуры, осветленную жидкость клеточной культуры, осветленный материал клеточной культуры, захваченный пул, извлеченный пул и/или собранный пул, содержащий терапевтическое или диагностическое антитело, представляющее интерес, после одного или более этапов центрифугирования и/или этапов фильтрации, захваченный пул, извлеченный пул и/или собранный пул, содержащий терапевтическое или  
25 диагностическое антитело, представляющее интерес, после одного или более этапов очистки.

Термин «примеси» относится к материалам, которые отличаются от продукта целевого антитела к N3pG. Примесь включает, но не ограничивается перечисленными: материалы клетки-хозяина, такие как белки клетки-хозяина, СНОР; выщелоченный белок  
30 А; нуклеиновую кислоту; вариант, вариант по размеру, фрагмент, агрегат или производное целевого антитела; эндотоксин; вирусный контаминант; компонент среды для культивирования клеток и т. д.

Термины «белок» и «полипептид» используются в настоящей заявке взаимозаменяемо для обозначения полимера аминокислот любой длины. Полимер может

быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты и может быть прерван не аминокислотами. Эти термины также охватывают полимер аминокислот, который был модифицирован естественным путем или путем искусственного вмешательства; например, вследствие образования дисульфидной связи, гликозилирования, липидизации, ацетилирования, фосфорилирования или с помощью любых других манипуляций или модификаций, таких как конъюгация с метящим компонентом. Также в данное определение включены, например, белки, содержащие один или более аналогов аминокислоты (включая, например, неприродные аминокислоты и т. д.), а также другие модификации, известные в данной области техники. Примеры белков включают, но не ограничиваются перечисленными, антитела, пептиды, ферменты, рецепторы, гормоны, регуляторные факторы, антигены, связывающие агенты, цитокины, слитые белки Fc, молекулы иммуноадгезинов и т. д.

Термин «антитело» в контексте настоящего документа относится к молекуле иммуноглобулина, которая связывает антиген. Варианты реализации антитела включают моноклональное антитело, поликлональное антитело, человеческое антитело, гуманизированное антитело, химерное антитело, биспецифичное или полиспецифичное антитело или конъюгированное антитело. Антитела могут относиться к любому классу (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA) и любому подклассу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4).

Примерное антитело согласно настоящему изобретению представляет собой антитело типа иммуноглобулина G (IgG), состоящее из четырех полипептидных цепей: двух тяжелых цепей (HC) и двух легких цепей (LC), которые сшиты посредством межцепочечных дисульфидных связей. Аминоконцевая часть каждой из четырех полипептидных цепей включает переменную область из примерно 100-125 или более аминокислот, в первую очередь, отвечающую за распознавание антигена. Карбоксиконцевая часть каждой из четырех полипептидных цепей содержит константную область, в первую очередь, отвечающую за эффекторную функцию. Каждая тяжелая цепь состоит из переменной области тяжелой цепи (VH) и константной области тяжелой цепи. Каждая легкая цепь состоит из переменной области легкой цепи (VL) и константной области легкой цепи. Изотип IgG можно дополнительно разделить на подклассы (например, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4).

Области VH и VL могут быть дополнительно подразделены на участки гиперпеременной, называемые определяющими комплементарность участками (CDR), перемежающиеся с участками, которые являются более консервативными и называются каркасными участками (FR). CDR экспонируются на поверхности белка и являются

важными участками антитела для специфичности связывания антигена. Каждая VL и VH состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В настоящей заявке три CDR тяжелой цепи обозначены как «HCDR1, HCDR2 и HCDR3», а три CDR легкой цепи обозначены как «LCDR1, LCDR2 и LCDR3». CDR содержат большинство остатков, которые формируют специфичные взаимодействия с антигеном. Отнесение аминокислотных остатков к CDR может быть выполнено в соответствии с хорошо известными схемами, в том числе описанными у Kabat (Kabat et al., «Sequences of Proteins of Immunological Interest,» National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)), Chothia (Chothia et al., «Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins», Journal of Molecular Biology, 196, 901-917 (1987); Al-Lazikani et al., «Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins», Journal of Molecular Biology, 273, 927-948 (1997)), North (North et al., «A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations», Journal of Molecular Biology, 406, 228-256 (2011)) или IMGT (международной базе данных ImMunoGeneTics, доступной на сайте [www.imgt.org](http://www.imgt.org); см. Lefranc et al., Nucleic Acids Res. 1999; 27:209-212).

Варианты реализации настоящего изобретения также включают фрагменты антител или антигенсвязывающие фрагменты, которые, в контексте настоящего документа, содержат по меньшей мере часть антитела, сохраняющую способность специфично взаимодействовать с антигеном или эпитопом антигена, такие как фрагменты Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, scFv-фрагменты антител, scFab, дисульфидсвязанные Fv (sdFv), Fd-фрагмент.

Раскрытые способы могут быть осуществлены для получения препарата лекарственного вещества.

В раскрытых способах и композициях могут применяться или содержаться антитела к бета-амилоидному пептиду Np3Glu («антитела к Np3G»). Антитела к Np3G можно применять при лечении заболеваний, связанных с агрегацией бета-амилоидного пептида (A $\beta$ ). Расщепление белка-предшественника амилоида (APP) приводит к образованию пептидов A $\beta$  с размером в диапазоне от 38 до 43 аминокислот. Превращение A $\beta$  из растворимых в нерастворимые формы с высоким содержанием  $\beta$ -складок и отложение этих нерастворимых форм в виде нейритных и цереброваскулярных бляшек в головном мозге связано с рядом состояний и заболеваний, включая болезнь Альцгеймера (AD), синдром Дауна и церебральную амилоидную ангиопатию (CAA). Отложения, найденные в бляшках, состоят из гетерогенной смеси пептидов A $\beta$ . N3pGlu A $\beta$ , также называемый N3pE, pE3-X или A $\beta$ <sub>p3-x</sub>, представляет собой усеченную на N-конце форму пептида A $\beta$  и в основном обнаруживается в бляшках. N3pGlu A $\beta$  лишен первых двух

аминокислотных остатков на N-конце человеческого A $\beta$  и имеет пироглутамат, который произошел из глутаминовой кислоты в третьем положении аминокислоты. Хотя пептид N3pGlu A $\beta$  представляет собой минорный компонент отложенного A $\beta$  в головном мозге, исследования показали, что пептид N3pGlu A $\beta$  склонен к агрессивной агрегации и накапливается на начальных стадиях каскада отложения. Антитела к N3pGlu A $\beta$  известны в данной области техники. Например, в патенте США № 8679498 раскрыты антитела к человеческому N3pGlu A $\beta$  (например, B12L; также известное как LY3002813) и способы лечения заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, указанными антителами. В патенте США № 10647759 раскрыты антитела к N3pG Ab, включая «антитело 201с», и способы лечения заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, указанными антителами. Антитела к Np3Glu раскрытых способов и композиций могут специфично связываться с эпитопом, присутствующим в Ab, который представляет собой P<sub>yr</sub>-EFRHDSGYEVHHQK (т.е. pE3-16).

В раскрытых способах и композициях могут применяться или содержаться антитела к спайк-белку коронавируса внезапного острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2). Термин «антитело к SARS-CoV2» в контексте настоящего документа относится к антителу, которое связывает спайк (S) белок SARS-CoV-2. Аминокислотная последовательность спайк (S) белка SARS-CoV-2 была описана ранее, например, номер доступа в GenBank: YP\_009724390.1.

Термин «ультрафильтрация» или «фильтрация» относится к форме мембранной фильтрации, при которой гидростатическое давление прижимает жидкость к полупроницаемой мембране. Взвешенные вещества и растворенные вещества с высокой молекулярной массой задерживаются, а вода и растворенные вещества с низкой молекулярной массой проходят через мембрану. В некоторых примерах ультрафильтрационные мембраны имеют размеры пор в диапазоне от 1 мкм до 100 мкм. Термины «ультрафильтрационная мембрана», «ультрафильтрационный фильтр», «фильтрационная мембрана» и «фильтрационный фильтр» могут использоваться взаимозаменяемо. Примеры фильтрационных мембран включают, но не ограничиваются перечисленными, мембрану из поливинилидендифторида (PVDF), ацетата целлюлозы, нитрата целлюлозы, политетрафторэтилена (PTFE, тефлон), поливинилхлорида, полиэфирсульфона, стекловолокна или других фильтрационных материалов, подходящих для использования согласно действующим требованиям Надлежащей производственной практики в производственной среде.

В настоящей заявке числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон.

Термин «нумерация ЕС», признанный в данной области техники, относится к системе нумерации аминокислотных остатков молекул иммуноглобулинов. Нумерация ЕС описана, например, в Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991); Edelman, G.M, et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969); и [http://www.imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu\\_IGHGnber.html#refs](http://www.imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu_IGHGnber.html#refs). Термин «нумерация по Kabat» признан в данной области техники как относящийся к системе нумерации аминокислотных остатков, которые являются более переменными (т.е. гиперпеременными), чем другие аминокислотные остатки в переменных областях тяжелой и легкой цепей (см., например, Kabat, et al., *Ann. NY Acad. Sci.* 190:382-93 (1971); Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 (1991)). Термин «нумерация по North» относится к системе нумерации аминокислотных остатков, которые являются более переменными (т.е. гиперпеременными), чем другие аминокислотные остатки в переменных областях тяжелой и легкой цепей, она основана, по меньшей мере частично, на кластеризации распределения аффинности с большим числом кристаллических структур, как описано в North et al., *A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations*, *Journal of Molecular Biology*, 406:228-256 (2011).

В настоящей заявке термин «аффинная хроматография» относится к хроматографическому методу разделения биохимических смесей (например, белка и нецелевых соединений биомолекул), основанному на специфичных обратимых взаимодействиях между биомолекулами. Примерные варианты реализации аффинной хроматографии включают аффинную хроматографию с белком А, аффинную хроматографию с белком G, аффинную хроматографию с белком L, хроматографию с аффинным лигандом для каппа-цепи (например, CaptureSelect™, КарраXL™, КарраSelect™, КарраХР™) или хроматографию с аффинным лигандом для лямбда-цепи.

Белок согласно настоящему изобретению может быть включен в фармацевтическую композицию, которая может быть приготовлена способами, хорошо известными в данной области техники, и содержит белок согласно настоящему изобретению и один или более фармацевтически приемлемых носителей и/или разбавителей (например, Remington, *The Science and Practice of Pharmacy*, 22<sup>nd</sup> Edition, Loyd V., Ed., Pharmaceutical Press, 2012, в котором представлен сборник методик приготовления, общеизвестных практикующим специалистам). Подходящие носители для фармацевтических композиций включают любой материал, который сохраняет активность

молекулы и не вступает в реакцию с иммунной системой пациента при комбинировании с белком.

Векторы экспрессии, способные управлять экспрессией генов, с которыми они функционально связаны, хорошо известны в данной области техники. Векторы экспрессии могут кодировать сигнальный пептид, который облегчает секрецию полипептида(ов) из клетки-хозяина. Сигнальный пептид может представлять собой сигнальный пептид иммуноглобулина или гетерологичный сигнальный пептид. Каждый из экспрессируемых полипептидов может экспрессироваться независимо с разных промоторов, с которыми функционально связаны указанные полипептиды, в одном векторе или, альтернативно, может экспрессироваться независимо с разных промоторов, с которыми функционально связаны указанные полипептиды, в нескольких векторах. Векторы экспрессии, как правило, реплицируются в организмах-хозяевах либо как эписомы, либо как неотъемлемая часть хромосомной ДНК хозяина. Обычно векторы экспрессии будут содержать селективные маркеры, например, тетрациклин, неомицин и дигидрофолатредуктазу, чтобы обеспечить возможность детектирования тех клеток, которые трансформированы целевыми последовательностями ДНК.

Клетка-хозяин относится к клеткам, стабильно или временно трансфицированным, трансформированным, трансдуцированным или инфицированным одним или более векторами экспрессии, экспрессирующими один или более белков согласно настоящему изобретению. Создание и выделение линий клеток-хозяев, продуцирующих белки согласно настоящему изобретению, можно осуществлять, используя стандартные методики, известные в данной области техники. Клетки млекопитающих являются предпочтительными клетками-хозяевами для экспрессии белков согласно настоящему изобретению. Конкретные клетки млекопитающих включают НЕК 293, NS0, DG-44 и СНО. Предпочтительно белки секретируются в среду, в которой культивируют клетки-хозяева, из которой белки могут быть выделены или очищены, например, с использованием обычных методик. Например, среду можно вносить в колонку для аффинной хроматографии с белком А и/или колонку для хроматографии с аффинным лигандом для каппа-цепи или аффинным лигандом для лямбда-цепи и элюировать из нее. Нецелевые соединения биомолекул, включая растворимый агрегат и мультимеры, могут быть эффективно удалены с помощью обычных методик, включая эксклюзионную хроматографию (ЭХ), хроматографию гидрофобного взаимодействия, ионообменную или гидроксиапатитную хроматографию. Продукт может быть немедленно заморожен, например, при  $-70^{\circ}\text{C}$ , помещен в холодильник, или может быть лиофилизирован. Можно применять различные способы очистки белков, и такие способы известны в данной

области техники и описаны, например, в Deutscher, *Methods in Enzymology* 182: 83-89 (1990) и Scopes, *Protein Purification: Principles and Practice*, 3rd Edition, Springer, NY (1994).

5 Также в настоящей заявке раскрыты фармацевтические композиции, содержащие антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, причем указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент были получены способом, включающим очистку  
10 указанного антитела из клетки-хозяина млекопитающего. В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело, общее содержание белков клетки-хозяина (HCP) в композиции обычно составляет менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых фармацевтических композиций антитело указанных  
15 раскрытых фармацевтических композиций связывается с человеческим N3pGlu A $\beta$  (антитело к N3pGlu A $\beta$ ). Согласно некоторым вариантам реализации клетка млекопитающего представляет собой клетку яичника китайского хомяка (CHO).

15 Раскрытые фармацевтические композиции обычно содержат антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, которое может представлять собой антитело к N3pGlu A $\beta$ . Согласно некоторым вариантам реализации антитело представляет собой  
20 моноклональное антитело, химерное антитело, гуманизованное антитело, человеческое антитело, биспецифичное антитело или фрагмент антитела. Согласно некоторым вариантам реализации антитело представляет собой антитело IgG1.

Раскрытые фармацевтические композиции могут содержать антитело к N3pGlu A $\beta$ . Согласно некоторым вариантам реализации антитело к N3pGlu A $\beta$  содержит тяжелую  
25 цепь (HC) и легкую цепь (LC), причем указанная легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные  
30 последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO:17), LCDR2 представляет собой AVSKLDS (SEQ ID NO:18), LCDR3 представляет собой VQGTHYPFT (SEQ ID NO:19),  
35 HCDR1 представляет собой GYDFTRYIN (SEQ ID NO:20), HCDR2 представляет собой WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO:21), и HCDR3 представляет собой EGITVY (SEQ ID NO:22).

Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых фармацевтических композиций  
35 указанные композиции содержат антитело к N3pGlu A $\beta$ , причем указанное антитело содержит LCVR и HCVR, при этом указанная LCVR представляет собой

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSKLDS  
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIK (SEQ ID  
NO:13) и указанная HCVR представляет собой  
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGN  
5 TKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGITVYWGQGTITVTVSS  
(SEQ ID NO: 14).

Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых фармацевтических композиций  
указанные композиции содержат антитело к N3pGlu Aβ, причем указанная LC антитела к  
N3pGlu Aβ представляет собой

10 DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSKLDS  
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVF  
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL  
SSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 15) и указанная  
HC антитела к N3pGlu Aβ представляет собой  
15 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGN  
TKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGITVYWGQGTITVTVSSA  
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG  
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGP  
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  
20 NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR  
DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK  
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 16).

Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых композиций указанные  
композиции содержат донанемаб.

25 Согласно некоторым вариантам реализации раскрытые композиции содержат антитело  
к N3pGlu Aβ, которое содержит тяжелую цепь (HC) и легкую цепь (LC), причем указанная  
легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая  
цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR  
содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная  
30 HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при  
этом LCDR1 представляет собой RASQSLGNWLA (SEQ ID NO: 27), LCDR2 представляет  
собой YQASTLES (SEQ ID NO: 28), LCDR3 представляет собой QHYKGSFWT (SEQ ID  
NO: 29), HCDR1 представляет собой AASGFTFSSYPMS (SEQ ID NO: 30), HCDR2  
представляет собой AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 31) и HCDR3 представляет  
35 собой AREGGSGSYNGFDY (SEQ ID NO: 32).

Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых фармацевтических композиций указанные композиции содержат антитело к N3pGlu Aβ, причем указанное антитело содержит LCVR и HCVR, при этом указанная LCVR представляет собой DIQMTQSPSTLSASVGDRVITICRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASTLESGVP  
5 SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDEFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:23) и указанная HCVR представляет собой EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 24).

10 Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых фармацевтических композиций указанные композиции содержат антитело к N3pGlu Aβ, причем указанная LC антитела к N3pGlu Aβ представляет собой DIQMTQSPSTLSASVGDRVITICRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASTLESGVP SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDEFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP  
15 SDEQLKSGTASVVCLLNFPYAPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 25) и указанная HC антитела к N3pGlu Aβ представляет собой EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYWGQGT  
20 LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS  
25 KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 26).

Согласно некоторым вариантам реализации раскрытых композиций указанные композиции содержат антитело 201с, упомянутое в патенте США № 10647759.

В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, которое может включать антитело к N3pGlu, такое как донанемаб, указанные  
30 фармацевтические композиции могут иметь сниженное общее содержание белков клетки-хозяина (HCP). Согласно некоторым вариантам реализации композиции содержат менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. HCP (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). Согласно некоторым вариантам реализации композиции содержат менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. HCP,  
35 выбранных из HCP и их комбинаций, указанных далее: белок S100-A6, белок S100-A11,

белок 2, подобный фосфолипазе В, лизосомальный защитный белок, убиквитин-40S рибосомный белок S27a, калликреин-11, изоформа X1 сериновой протеазы HTRA1, субкомпонент комплемента C1r, актин, изоформа X1 гладких мышц аорты, когнатный белок теплового шока 71 кДа, пероксиредоксин-1.

5 В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. белка S100-A6 (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д.  
10 или 1 м.д. белка S100-A11 (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. белка 2, подобного фосфолипазе В (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д.  
15 или 1 м.д. лизосомального защитного белка (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. убиквитин-40S рибосомного белка S27a (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. калликреина-11 (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1 (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. субкомпонента комплемента C1r (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. актина, изоформы X1 гладких мышц аорты (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. актина, изоформы X1 гладких мышц аорты (например, как измерено с помощью ЖХ-МС).  
20  
25  
30  
35

В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. когнатного белка теплового шока 71 кДа (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, 5 указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. пероксиредоксина-1 (например, как измерено с помощью ЖХ-МС).

В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело, которое может включать антитело к N3pGlu, такое как антитело 201с, указанные фармацевтические композиции могут иметь сниженное общее содержание белков клетки- 10 хозяина (НСП). Согласно некоторым вариантам реализации композиции содержат менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. НСП (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). Согласно некоторым вариантам реализации композиции содержат менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. НСП, 15 выбранных из следующих НСП и их комбинаций: полиубиквитина, лизосомального защитного белка, глутатион-S-трансферазы Y1, 40S рибосомного белка S28, изоформы X1 тиоредоксина, изоформы X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны, белка, подобного антигену тубулоинтерстициального нефрита, актина – неполной цитоплазматической 2 изоформы X2, галектина-1, пероксиредоксина-1 и корнифина-альфа.

В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, 20 указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. полиубиквитина (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. 25 или 1 м.д. лизосомального защитного белка (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. глутатион-S-трансферазы Y1 (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, 30 указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. глутатион-S-трансферазы Y1 (как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. 35 или 1 м.д. 40S рибосомного белка S28 (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные

композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. изоформы X1 тиоредоксина (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. изоформы X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. белка, подобного антигену тубулоинтерстициального нефрита (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. актина, неполной цитоплазматической 2 изоформы X2 (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. галектина-1 (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. пероксиредоксина-1 (например, как измерено с помощью ЖХ-МС). В раскрытых фармацевтических композициях, содержащих антитело к N3pG, указанные композиции могут содержать менее чем примерно 100 м.д., 50 м.д., 20 м.д., 10 м.д., 5 м.д. или 1 м.д. корнифина-альфа (например, как измерено с помощью ЖХ-МС).

### ПРИМЕРЫ

**Измерения белка клетки-хозяина (НСП) с помощью ЖХ-МС:** для оценки влияния очистки на уровне белка клетки-хозяина (НСП) в следующих примерах образцы анализируют с помощью картирования пептидов/ЖХ-МС/МС-профилирования НСП, например, методом ультраэффективной жидкостной хроматографии (УЭЖХ) в сочетании с масс-спектрометром Thermo Scientific. Способы детектирования НСП раскрыты в данной области техники. (См., например, Huang *et al.*, «A Novel Sample Preparation for Shotgun Proteomics Characterization of НСПs in Antibodies,» Anal. Chem. 2017, 89, 5436-5444.) В этом анализе образцы подвергают расщеплению трипсином, восстановлению/осаждению дитиотреитолом (DTT) с последующим переносом и подкислением супернатанта во флаконе ВЭЖХ для анализа ЖХ-МС/МС. Данные ЖХ-МС/МС анализируют с помощью Proteome Discoverer по базе данных белков CHO-K1 с добавлением последовательностей антител, спайк-белка и контрольного белка. Концентрация НСП сообщается в виде общего

числа долей на миллион (м.д.) НСР на образец в случае общего содержания НСР (например, нг НСР на мг продукта). Кроме того, также представлены концентрации некоторых НСР (например, белка 2, подобного фосфолипазе В (PLBL2), и лизосомального защитного белка).

- 5 **Измерения НСР с помощью ИФА:** концентрацию НСР в образцах также оценивают в примерах ниже с помощью анализа методом ИФА с использованием набора Gyrolab® СНО-НСР 1 (Cygnus Technologies, выполнен в соответствии с инструкциями производителя). Полученная концентрация НСР сообщается в виде общего числа долей на миллион (м.д.) НСР на образец в случае общего содержания НСР.

10 **Пример 1 – Снижение содержания НСР в способе очистки МАТ 1 (этесевимаба)**

**Этап захвата белка:** продезинфицированную колонку с белком А (среда MabSelect SuRe с белком А) уравнивают, и МАТ 1 (этесевимаб), собранное из бесклеточного биореактора, загружают на колонку с белком А и выполняют три промывки колонки с белком А с использованием 20 мМ триса (рН 7,0) в качестве последней промывки. МАТ 1  
15 элюируют из колонки, используя 5 объемов колонки (CV) 20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ фосфорной кислоты. Фракцию основного продукта собирают в одну общую фракцию с использованием отсечения пика на основе поглощения по передней и задней сторонам.

**Этап вирусной инактивации при низком рН и этап нейтрализации:** рН фракции основного продукта (общая фракция элюата с захваченным белком), содержащей МАТ 1,  
20 доводят до уровня рН от 3,30 до 3,60 путем добавления 20 мМ НСI для вирусной инактивации при низком рН. Смесь инкубируют при температуре от 18°C до 25°C в течение 180 мин. Затем смесь нейтрализуют до рН 7,0 с использованием 250 мМ трис-основного буфера без доведения рН.

**Этап глубинной фильтрации:** Глубинный фильтр (X0SP, Millipore) промывают водой  
25 для инъекций (WFI). Смесь МАТ 1, полученную на этапе вирусной инактивации при низком рН и этапе нейтрализации, наносят на глубинный фильтр с загрузкой 1200 г/м<sup>2</sup> (граммы МАТ на м<sup>2</sup> площади мембраны глубинного фильтра). Загруженный глубинный фильтр промывают WFI. Фильтрат с глубинного фильтра, необязательно включая промывку WFI после загрузки, нейтрализуют до рН 8,0 с использованием 250 мМ трис-  
30 основного буфера без доведения рН.

**Этап анионообменной (АО) хроматографии:** продезинфицированную колонку (среда для анионообменной хроматографии Q Sepharose Fast Flow или QFF) уравнивают 2  
CV 20 мМ триса (рН 8,0). Раствор МАТ 1, полученный на этапе глубинной фильтрации, загружают на колонку при загрузке от 25 до 100 г на литр смолы и выполняют  
35 дополнительную промывку уравнивающим буфером. МАТ 1 собирают путем

отсечения пика на основе поглощения по передней и задней сторонам области пика, образованной несвязанной фракцией, плюс дополнительная промывка.

**Результаты:** При использовании описанного способа очистки общий уровень НСР, измеренный с помощью ЖХ-МС, составляет:

- 5 • 23299 м.д. после элюирования с белка А;
- 13 м.д. после глубинной фильтрации X0SP;
- 2 м.д. после АО-хроматографии.

**Оценка набора 1 глубинных фильтров для МАТ 1:** МАТ 1 обрабатывают с использованием белка А, этапов вирусной инактивации при низком рН, нейтрализации и 10 глубинной фильтрации по существу, как описано выше. Четыре различных глубинных фильтра: Emphaze™ АОХ Hybrid Purifier, Zeta Plus BC25 –60ZB05А, Zeta Plus BC25 – 90ZB05А и Zeta Plus BC25 – 90ZB08А (3М) тестируют при загрузке 2000 г/м<sup>2</sup>, как показано в Таблице 1. Результаты в Таблице 1 показывают значительное снижение общего содержания НСР после глубинной фильтрации согласно ЖХ-МС и/или ИФА для 4 15 протестированных глубинных фильтров по сравнению с общим содержанием НСР, наблюдаемым после элюирования с белка А.

**Таблица 1. Общее содержание НСР МАТ 1 до и после глубинной фильтрации**

Общее содержание НСР после элюирования с белка А (м.д.)		Глубинный фильтр	Общее содержание НСР после глубинной фильтрации (м.д.)	
ЖХ-МС	ИФА		ЖХ-МС	ИФА
28901	527	Emphaze™ АОХ Hybrid Purifier	недоступно	16
		Zeta Plus BC25 – (60ZB05А)	31	8
		Zeta Plus BC25 – (90ZB05А)	29	7
		Zeta Plus BC25 – (90ZB08А)	24	6

**Пример 2 – Снижение содержания НСР в способе очистки МАТ 2 (бамланивимаба)**

20 **Сравнение буфера для элюирования с белка А:** МАТ 2 готовят по существу так же, как описано для МАТ 1 в Примере 1, со следующими исключениями: 1) после вирусной инактивации при низком рН и перед глубинной фильтрацией раствор нейтрализуют до рН

7,25 вместо 7,0 с использованием 250 мМ трис-основного буфера без доведения рН, и 2) МАТ 2 элюируют из колонки для захвата с белком А с использованием комбинаций буферов, перечисленных в Таблице 2, и 3) АО-хроматографию выполняют с использованием смолы Poros XQ. Содержание НСР (общий уровень НСР и уровень PLBL2) оценивают с помощью ЖХ-МС после отдельных операций очистки, как указано в Таблицах 2 и 3. Результаты в Таблицах 2 и 3 показывают, что общее содержание НСР и содержание PLBL2 снижается для всех 3 протестированных комбинаций буферов после этапа глубинной фильтрации. В частности, 20 мМ уксусная кислота + 5 мМ фосфорная кислота и 20 мМ уксусная кислота + 5 мМ L-молочная кислота показали большее снижение общего содержания НСР и содержания PLBL2 менее 20 м.д. при сравнении с комбинацией 20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ лимонной кислоты после глубинной фильтрации.

**Таблица 2. Общее содержание НСР МАТ 2 при использовании различных буферов для элюирования с белка А**

<b>Буфер для элюирования с белка А</b>	<b>Общее содержание НСР согласно детектированию ЖХ-МС после элюирования с белка А (м.д.)</b>	<b>Общее содержание НСР согласно детектированию ЖХ-МС после глубинной фильтрации X0SP (м.д.)</b>	<b>Общее содержание НСР согласно детектированию ЖХ-МС после АО-хроматографии (м.д.)</b>
<b>20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ лимонной кислоты</b>	71022	469	55
<b>20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ фосфорной кислоты</b>	77892	7	11
<b>20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ L-молочной кислоты</b>	78669	16	Ниже предела количественного определения

**Таблица 3. Содержание PLBL2 МАТ 2 при использовании различных буферов для элюирования с белка А**

<b>Буфер для элюирования с белка А</b>	<b>PLBL2 согласно детектированию ЖХ-МС после элюирования с белка А (м.д.)</b>	<b>PLBL2 согласно детектированию ЖХ-МС после глубинной фильтрации X0SP (м.д.)</b>	<b>PLBL2 согласно детектированию ЖХ-МС после АО-хроматографии (м.д.)</b>
<b>20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ лимонной кислоты</b>	356	454	8
<b>20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ фосфорной кислоты</b>	351	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
<b>20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ L-молочной кислоты</b>	404	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения

**Оценка набора 2 глубинных фильтров:** МАТ 2 готовят по существу так же, как описано для МАТ 1, со следующими исключениями: 1) после вирусной инактивации при низком рН и перед глубинной фильтрацией нейтрализуют рН раствора до рН 7,25 вместо 7,0 с использованием 250 мМ трис-основного буфера без доведения рН, и 2) глубинную фильтрацию выполняют с использованием глубинных фильтров, показанных в Таблице 4. В Таблице 4 показано общее содержание НСР и содержание PLBL2 после глубинной 5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65  
70  
75  
80  
85  
90  
95  
100  
105  
110  
115  
120  
125  
130  
135  
140  
145  
150  
155  
160  
165  
170  
175  
180  
185  
190  
195  
200  
205  
210  
215  
220  
225  
230  
235  
240  
245  
250  
255  
260  
265  
270  
275  
280  
285  
290  
295  
300  
305  
310  
315  
320  
325  
330  
335  
340  
345  
350  
355  
360  
365  
370  
375  
380  
385  
390  
395  
400  
405  
410  
415  
420  
425  
430  
435  
440  
445  
450  
455  
460  
465  
470  
475  
480  
485  
490  
495  
500  
505  
510  
515  
520  
525  
530  
535  
540  
545  
550  
555  
560  
565  
570  
575  
580  
585  
590  
595  
600  
605  
610  
615  
620  
625  
630  
635  
640  
645  
650  
655  
660  
665  
670  
675  
680  
685  
690  
695  
700  
705  
710  
715  
720  
725  
730  
735  
740  
745  
750  
755  
760  
765  
770  
775  
780  
785  
790  
795  
800  
805  
810  
815  
820  
825  
830  
835  
840  
845  
850  
855  
860  
865  
870  
875  
880  
885  
890  
895  
900  
905  
910  
915  
920  
925  
930  
935  
940  
945  
950  
955  
960  
965  
970  
975  
980  
985  
990  
995

фильтрации с использованием различных глубинных фильтров при загрузке 1500 г/м<sup>2</sup>. Все 3 протестированных глубинных фильтра из набора 2 (X0SP, C0SP, X0HC, (Millipore)) показывают значительное снижение общего содержания НСР и содержания PLBL2 менее 20 м.д. после глубинной фильтрации.

**Таблица 4. Общее содержание НСР и содержание PLBL2 МАТ 2 до и после глубинной фильтрации**

Общее содержание НСР согласно ЖХ-МС после элюирования с белка А (м.д.)	Содержание PLBL2 согласно ЖХ-МС после элюирования с белка А (м.д.)	Глубинный фильтр	Общее содержание НСР согласно ЖХ-МС после глубинной фильтрации (м.д.)	Содержание PLBL2 согласно ЖХ-МС после глубинной фильтрации (м.д.)
74528	543	X0SP	3	Ниже предела количественного определения
		C0SP	18	5
		X0HC	2	Ниже предела количественного определения

**Пример 3. Снижение содержания НСР в способе очистки МАТ 3**

5 **(белтеловимаба)**

МАТ 3 готовят с использованием этапов захвата белка, вирусной инактивации при низком рН, нейтрализации и глубинной фильтрации по существу так же, как описано для МАТ 1 в Примере 1, за исключением использования глубинного фильтра X0SP с загрузкой 900 г/м<sup>2</sup>. При использовании описанного способа очистки общий уровень НСР, измеренный с помощью ЖХ-МС, составляет:

- 179964 м.д. после элюирования с белка А,
- 77 м.д. после глубинной фильтрации X0SP (Millipore).

**Пример 4. Снижение содержания НСР в способе очистки биспецифичного антитела (МАТ 4)**

15 Биспецифичное антитело МАТ 4 готовят, используя этап захвата белка по существу так же, как описано для МАТ 1 в Примере 1, за исключением использования колонки для аффинного захвата с белком L (Cytiva) и элюирования буферными системами, показанными в Таблице 5. Общее содержание НСР измеряют с помощью ИФА, что дает диапазон от примерно 1300 до примерно 2500 м.д. После захвата белка выполняют вирусную инактивацию при низком рН по существу так же, как описано для МАТ 1 в  
20 Примере 1, за исключением использования титрантов, перечисленных в Таблице 5, с

последующей нейтрализацией до рН 7,0 с использованием 500 мМ трис-основного буфера без доведения рН. Этап глубинной фильтрации затем выполняют так же, как описано для МАТ 1 в Примере 1, с использованием глубинного фильтра X0SP при загрузке 1200 г/м<sup>2</sup>. Содержание НСР измеряют после глубинной фильтрации с помощью ИФА.

5 Результаты в Таблице 5 показывают значительное снижение общего содержания НСР до менее чем  $\leq 50$  м.д. для записей 1-7 после глубинной фильтрации, где ионная сила смесей, нанесенных на глубинный фильтр, была менее 45 мМ. Кроме того, наблюдали корреляцию между ионной силой смесей, нанесенных на глубинный фильтр, и общим содержанием НСР после глубинной фильтрации. Кроме того, запись 2 показывает, что  
10 ионная сила может быть уменьшена путем разбавления буфера, что обеспечивает низкое содержание НСР после глубинной фильтрации, однако увеличение объема в результате разбавления может быть неблагоприятным для способов изготовления.

**Таблица 5. Уровни НСР в препаратах МАТ 4 после элюирования с белка L и глубинной фильтрации**

Запись	Буфер для элюирования с белка L	Титрант для вирусной инактивации при низком рН	Ионная сила смеси, нанесенной на глубинный фильтр (мМ)	Общее содержание НСР согласно ИФА после глубинной фильтрации X0SP (м.д.)
1	20 мМ уксусной кислоты + 10 мМ фосфорной кислоты	20 мМ уксусной кислоты + 10 мМ фосфорной кислоты	38	38
2	20 мМ уксусной кислоты + 10 мМ фосфорной кислоты	20 мМ уксусной кислоты + 10 мМ фосфорной кислоты	13 (после разбавления H <sub>2</sub> O 1:2)*	18
3	20 мМ уксусной кислоты + 10 мМ фосфорной кислоты	20 мМ HCl	36	35
4	20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ фосфорной	20 мМ HCl	27	30

	кислоты			
5	20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ муравьиной кислоты	20 мМ HCl	23	26
6	20 мМ уксусной кислоты + 10 мМ фосфорной кислоты	200 мМ фосфорной кислоты	43	50
7	20 мМ уксусной кислоты + 10 мМ фосфорной кислоты	15 мМ фосфорной кислоты	37	36
8	20 мМ уксусной кислоты + 10 мМ фосфорной кислоты	1000 мМ лимонной кислоты	64	209

\*после вирусной инактивации при низком pH и нейтрализации до pH 7,0 с использованием 500 мМ триса раствор МАТ 4 разбавляют 2 частями воды (соотношение 1:2 раствор МАТ 4:H<sub>2</sub>O)

**Пример 5. Снижение содержания НСР в способах очистки МАТ 5 (донанемаба)**

5           Препарат МАТ 5 готовят с использованием этапов, по существу описанных ниже: захвата белка, вирусной инактивации при низком pH и нейтрализации, глубинной фильтрации, анионообменной (АОХ) хроматографии, катионообменной (КОХ) хроматографии, вирусной фильтрации и фильтрации с тангенциальным потоком (ТФФ).

**Этап захвата белка:**

10           Захват и очистка антитела путем снижения содержания связанных со способом примесей, таких как остаточные НСР и остаточная ДНК. Простерилизованную колонку с белком А (среда MabSelect с белком А) уравнивают, и моноклональное антитело (МАТ 5 (донанемаб), экспрессированное из клеток CHO), собранное из бесклеточного биореактора, загружают на колонку с белком А, и выполняют три промывки колонки с  
15 белком А с использованием 20 мМ триса (pH 7,0) в качестве последней промывки. Антитело элюируют из колонки с использованием 5 объемов колонки (CV) 20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ лимонной кислоты. Фракцию основного продукта собирают в

одну общую фракцию с использованием отсечения пика на основе поглощения по передней и задней сторонам.

**Этап вирусной инактивации при низком рН и этап нейтрализации:**

Инактивация вирусов, чувствительных к низкому рН, снижение содержания остаточного НСР, остаточного белка А, остаточной ДНК и общего количества агрегатов. Вирусную инактивацию проводят путем доведения рН собранной фракции основного продукта (общая фракция элюата с захваченным белком), содержащей МАТ, до рН 3,30-3,60 путем добавления 20 мМ уксусной кислоты, 5 мМ лимонной кислоты. Смесь инкубируют при температуре от 18°C до 25°C в течение примерно 180 мин. Затем смесь 10 нейтрализуют до уровня рН от 5 до 7,0, предпочтительно рН 5,0, с использованием 250 мМ трис-основного буфера без доведения рН.

**Этап глубинной фильтрации:**

Отдельный глубинный фильтр (В1НС, Millipore) промывают водой для инъекций (WFI) для каждого тестируемого условия (рН 5 с В1НС). Смесь МАТ, полученную на 15 этапе вирусной инактивации при низком рН и этапе нейтрализации, наносят на глубинный фильтр с целевой загрузкой приблизительно 500-1500 г/м<sup>2</sup> (граммы МАТ на м<sup>2</sup> площади мембраны глубинного фильтра). Загруженный глубинный фильтр промывают WFI. Фильтрат с глубинного фильтра, необязательно включая промывку WFI после загрузки, 20 нейтрализуют до рН 7,25 с использованием 250 мМ трис-основного буфера без доведения рН. Рассчитанный объем буфера с 20 мМ трис, 1 М NaCl, рН 7,0, добавляют до конечной концентрации NaCl 50 мМ.

**Этап анионообменной хроматографии (АОХ):**

Снижение содержания потенциальных вирусных контаминантов. Прозеинфицированную анионообменную (АОХ) колонку Poros XQ (Sartobind Q или 25 Poros HQ) предварительно уравнивают 2 CV буфера с 20 мМ трис, 1 М NaCl, рН 7,0, а затем 3 CV уравнивающего буфера с 20 мМ трис, 50 мМ NaCl (рН 7,25). Растворы МАТ, полученных на этапе глубинной фильтрации, для каждого условия глубинной фильтрации пропускали через колонку для АОХ в отдельных циклах в зависимости от условия глубинной фильтрации, загружали в колонку при загрузке приблизительно 100 г – 30 200 г на литр смолы (например, приблизительно 150 г на литр смолы), и выполняли дополнительную промывку уравнивающим буфером. МАТ собирают от начала загрузки и до конца промывки.

**Этап катионообменной хроматографии (КОХ):**

Позволяет снизить общее количество агрегатов, уменьшить содержание 35 остаточного НСР и уменьшить содержание остаточного белка А. рН различных

промежуточных соединений АОХ довели от приблизительно 7,25 до 5,0 добавлением 0,1 н. уксусной кислоты перед загрузкой в уравновешенную (20% подвижная фаза В или эквивалент 20 мМ ацетата натрия, 200 мМ хлорида натрия, рН 5,0) хроматографическую смолу для КОХ (POROS™ HS или UNOsphere S). Промежуточный продукт процесса АОХ при рН 5,0 смешивают с 15% подвижной фазой В (что соответствует 193 мМ хлорида натрия) в момент загрузки в колонку КОХ. Загрузка колонки составляла приблизительно 25 граммов МАТ на литр смолы. После загрузки колонку промывают 20% подвижной фазой В (эквивалентно 20 мМ ацетата натрия, 200 мМ хлорида натрия, рН 5,0), чтобы облегчить удаление несвязанных примесей. Затем МАТ элюируют из колонки линейным градиентом от 20% до 55% подвижной фазы В с использованием 10 объемов колонки (градиент от 200 до 550 мМ хлорида натрия в 20 мМ ацетате натрия, буфер с рН 5,0). Чтобы гарантировать полное элюирование продукта за линейным градиентом может следовать изократическая выдержка в 55% подвижной фазе В (эквивалентно 20 мМ ацетата натрия, 550 мМ хлорида натрия, рН 5,0). Во время элюции отсечка на основании УФ по передней стороне при не менее чем 4,8 отн. ед./см инициирует сбор элюата КОХ и продолжается через вершину пика до отсечки по задней стороне при не менее чем 2,4 отн. ед./см. Колонку регенерируют и дезинфицируют 1 н. раствором гидроксида натрия. Колонку можно хранить в 0,01 н. растворе гидроксида натрия. Содержание НСР в препаратах затем анализируют с помощью ЖХ-МС.

#### 20 **Вирусная фильтрация:**

Позволяет удалить потенциальные вирусные контаминанты. Вирусную фильтрацию выполняют через мембраны Viresolve Pro, Planova 20N или Planova BioEX.

#### **Фильтрация с тангенциальным потоком (TFF):**

Позволяет провести обмен промежуточного продукта процесса вирусной фильтрации в соответствующий матрикс для готового препарата лекарственного вещества (DS) и концентрирование антитела до соответствующего диапазона для готового препарата DS. TFF выполняют на мембране из PES 30 кДа или регенерированной целлюлозы 30 кДа.

#### **Распределение лекарственного вещества:**

30 После TFF выполняют добавление поверхностно-активного вещества для завершения изготовления лекарственного вещества и распределение в одобренную систему упаковки/укупорки для хранения и транспортировки при соответствующей температуре до изготовления лекарственного продукта.

#### **Измерение содержания НСР с помощью ЖХ-МС**

Содержание НСР измеряли с помощью ЖХ-МС, как описано ниже. Для партии 1 МАТ 5 и партии 2 МАТ 5 содержание НСР измеряли после этапа захвата белка, после вирусной инактивации при низком рН, после АОХ и после КОХ. Для партий 3-5 МАТ 5 содержание НСР измеряли перед распределением лекарственного вещества. Результаты показаны в **Таблицах 6а** и **6б** и в **Таблице 7** ниже.

#### *Приготовление образца*

Аликвоту, содержащую ~1 мг белка каждого образца или контроля, добавляли в чистую воду до 193 мл. Раствор смешивали с 5,0 мл 1 М трис-НСl-буфера, рН 8, аликвотой объемом 1,0 мл четырех белковых смесей, а затем обрабатывали 1 мл 2,5 мг/мл р-трипсина при 37°C в течение ночи. Каждый гидролизат смешивали с 2,0 мл 50 мг/мл раствора DTT и нагревали при 90°C в течение 15 минут. Наблюдали осадок. Образцы интенсивно встряхивали 2 раза по 30 с. Каждый образец центрифугировали при 13200 об./мин в течение 3 минут; 120 мл супернатанта переносили во флакон для ВЭЖХ. Образцы во флаконах для ВЭЖХ затем смешивали с 5,0 мкл 20% ТФУ в H<sub>2</sub>O для анализа ЖХ/МС.

#### *Метод ЖХ/МС/МС*

Приготовленные триптические пептиды анализировали с помощью УЭЖХ-МС/МС. Образцы вводили непосредственно в Waters Acquity UPLC CSH C18 (Милфорд, Массачусетс, США) (2,1 × 50 мм, размер частиц 1,7 мкм) в объеме 50 мкл. Во время анализа колонку нагревали до 60°C. Разделение выполняли в системе УЭЖХ Waters Acquity с подвижной фазой А, состоящей из 0,1% муравьиной кислоты в воде, и подвижной фазой В, состоящей из 0,1% муравьиной кислоты в ацетонитриле, с уравниванием при 0% подвижной фазы В в течение 2 мин при 200 мкл/мин, линейное увеличение от 0% до 10% в течение 23 минут, до 20% В в течение 57 минут, до 30% в течение 30 минут при скорости потока 50 мкл/мин, с последующими несколькими циклами промывки зигзагами при скорости потока 400 мкл/мин. Масс-спектрометрический анализ выполняли на масс-спектрометре Thermo Scientific Q Exactive Plus (Бремен, Германия). Зависимую от данных МС/МС выполняли следующим образом: первым событием было обзорное сканирование массы положительных ионов (диапазон  $m/z$  230–1500), а затем 10 событий HCD (28% NCE) для 10 наиболее распространенных ионов из первого события. Ионы генерировали, используя скорость потока распыляющего газа 15, скорость потока вспомогательного газа 5, напряжение распыления 4 кВ, температуру капилляра 320°C и уровень RF S-Lens 50. Разрешение установили на 35000 (целевое значение AGC  $5 \times 10^6$ ) и 17500 (целевое значение AGC  $5 \times 10^4$ ) для обзорных сканирований и событий МС/МС, соответственно. Максимальное время введения ионов

составляло 250 мс для обзорного сканирования, 300 мс для остальных сканирований. Продолжительность динамического исключения 60 с использовали с одним подсчетом повторов.

*Идентификация и количественная оценка НСР*

5 Индивидуальную базу данных белков, состоящую из последовательностей, полученных из базы данных CHO-K1\_refseq\_2014 Protein.fasta (загружена 23 августа 2014 г. с <http://www.chogenome.org>), разрабатывали для прогнозирования идентичности НСР по данным МС/МС. Поиск данных МС/МС проводили с допуском по массе 10 м.д. и 0,02 Да и строгой частотой ложных обнаружений (FDR)  $\leq 1\%$  по этой базе данных с  
10 использованием пакета программного обеспечения Proteome Discoverer, версии 1.4 или 2.3 (Thermo Scientific, Бремен, Германия), с поиском Sequest HT. Дальнейшую фильтрацию пептид/белок выполняли путем исключения белков, которые имели 0 баллов и одно спектральное соответствие, или одно спектральное соответствие и  $\geq 10$  м.д. и контаминировали белки человека. Площадь белка 3 приоритетных пептидов (если  
15 возможно) для каждого НСР и площади для трех белков р-трипсина, PCSK9 и ADH1, внесенных в известной концентрации, использовали для расчета индивидуальной концентрации НСР (м.д. или нг НСР/мг МАТ).

**Таблица 6а: Внутрипроизводственное содержание НСР для партии 1 МАТ 5 по данным ЖХ-МС**

НСР ID	Оценка EpiMatrix	Содержание НСР после захвата белка (м.д.)	Содержание НСР после вирусной инактивации и при низком рН (м.д.)	Содержание НСР после АОХ (м.д.)	Содержание НСР после КОХ (м.д.)
<b>Общее содержание</b>	Неприменимо	101023	1685	943	42,2
Белок S100-A6	52,84	6,6	5,9	3,9	Ниже предела количественного определения
Белок S100-A11	48,79	8,8	1,8	Ниже предела	Ниже предела

НСП ID	Оценка EpiMatrix	Содержание НСП после захвата белка (м.д.)	Содержание НСП после вирусной инактивации при низком рН (м.д.)	Содержание НСП после АОХ (м.д.)	Содержание НСП после КОХ (м.д.)
				количественного определения	количественного определения
Белок 2, подобный фосфолипазе В	32,89	547	24,4	14,3	12,2
Лизосомальный защитный белок	29,45	227,7	102,7	26	Ниже предела количественного определения
Убиквитин-40S рибосомный белок S27a	1,9	9,9	9,2	13,4	Ниже предела количественного определения
Калликреин-11	-12,83	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
Изоформа X1 сериновой протеазы HTRA1	-13	1950,6	260,3	145,6	Ниже предела количественного определения

<b>НСР ID</b>	<b>Оценка EpiMatrix</b>	<b>Содержание НСР после захвата белка (м.д.)</b>	<b>Содержание НСР после вирусной инактивации и при низком рН (м.д.)</b>	<b>Содержание НСР после АОХ (м.д.)</b>	<b>Содержание НСР после КОХ (м.д.)</b>
Изоформа X1 тиоредоксина	-15,94	14,5	4,8	2,1	1,5
Субкомпонент комплемента C1r	-23,01	644,9	28,5	23,6	16,8
Актин, изоформа X1 гладких мышц аорты	-34,63	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
Галектин-1	-45,49	36,4	2,7	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
Когнатный белок теплового шока 71 кДа	-47,2	579,3	14,8	32,4	Ниже предела количественного определения
Пероксиредоксин-1	-50,43	465,4	127,6	108,3	22,6
Корнифин-альфа	-109,26	68,7	11,1	12,6	Ниже предела количественного определения

**Таблица 6b: Внутрипроизводственное содержание НСР для партии 2 МАТ 5 по данным ЖХ-МС**

<b>НСР ID</b>	<b>Оценка EpiMatrix</b>	<b>Содержание НСР после захвата белка (м.д.)</b>	<b>Содержание НСР после вирусной инаktivации и при низком рН (м.д.)</b>	<b>Содержание НСР после АОХ (м.д.)</b>	<b>Содержание НСР после КОХ (м.д.)</b>
<b>Общее содержание</b>	Неприменимо	104333	1384	933	70
<b>Белок S100-A6</b>	52,84	63,4	5,7	5,8	Ниже предела количественного определения
<b>Белок S100-A11</b>	48,79	14,3	1,8	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
<b>Белок 2, подобный фосфолипазе В</b>	32,89	507,6	19,8	12,2	Ниже предела количественного определения
<b>Лизосомальный защитный белок</b>	29,45	229,6	75,9	19,9	12
<b>Убиквитин-40S рибосомный белок S27a</b>	1,9	8,3	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения

<b>НСР ID</b>	<b>Оценка EpiMatrix</b>	<b>Содержание НСР после захвата белка (м.д.)</b>	<b>Содержание НСР после вирусной инактивации при низком рН (м.д.)</b>	<b>Содержание НСР после АОХ (м.д.)</b>	<b>Содержание НСР после КОХ (м.д.)</b>
<b>Калликреин-11</b>	-12,83	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
<b>Изоформа X1 сериновой протеазы HTRA1</b>	-13	1850,2	150,9	88,2	6,9
<b>Изоформа X1 тиоредоксина</b>	-15,94	14,6	4,2	4,2	6,5
<b>Субкомпонент комплемента C1r</b>	-23,01	542,8	24,1	23,1	15,4
<b>Актин, изоформа X1 гладких мышц аорты</b>	-34,63	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
<b>Галектин-1</b>	-45,49	42,7	1,7	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
<b>Когнатный белок теплового</b>	-47,2	590,3	17	49,4	Ниже предела количественного

<b>НСП ID</b>	<b>Оценка EpiMatrix</b>	<b>Содержание НСП после захвата белка (м.д.)</b>	<b>Содержание НСП после вирусной инактивации при низком рН (м.д.)</b>	<b>Содержание НСП после АОХ (м.д.)</b>	<b>Содержание НСП после КОХ (м.д.)</b>
<b>шока 71 кДа</b>					ного определения
<b>Пероксиредок син-1</b>	-50,43	499,6	101,2	108,3	27
<b>Корнифин-альфа</b>	-109,26	75	12,1	11,2	1,1

**Таблица 7: Содержание НСП в лекарственном веществе для партий 3, 4 и 5 МАТ 5 по данным ЖХ-МС**

<b>НСП ID</b>	<b>Оценка EpiMatrix</b>	<b>Содержание НСП в лекарственном веществе партии 3 (м.д.)</b>	<b>Содержание НСП в лекарственном веществе партии 4 (м.д.)</b>	<b>Содержание НСП в лекарственном веществе партии 5 (м.д.)</b>
<b>Общее содержание</b>	Неприменимо	39,7	52,2	51,7
<b>Белок S100-A6</b>	52,84	0,4	0,4	0,4
<b>Белок S100-A11</b>	48,79	0,3	0,4	0,6
<b>Белок 2, подобный фосфолипазе В</b>	32,89	4,3	6,2	3,5
<b>Лизосомальный защитный белок</b>	29,45	7,1	6,8	6,1
<b>Убиквитин-40S рибосомный белок S27a</b>	1,9	1,1	0,6	1,3
<b>Калликреин-11</b>	-12,83	1,0	0,0	0,0

НСР ID	Оценка EpiMatrix	Содержание НСР в лекарственном веществе партии 3 (м.д.)	Содержание НСР в лекарственном веществе партии 4 (м.д.)	Содержание НСР в лекарственном веществе партии 5 (м.д.)
Изоформа X1 сериновой протеазы HTRA1	-13	1,8	1,6	1,7
Изоформа X1 тиоредоксина	-15,94	0,5	0,6	0,7
Субкомпонент компонента C1r	-23,01	5,2	4,3	5,6
Актин, изоформа X1 гладких мышц аорты	-34,63	3,2	5,1	5,0
Галектин-1	-45,49	0,4	5,5	3,2
Когнатный белок теплового шока 71 кДа	-47,2	3,2	2,7	3,8
Пероксиредоксин-1	-50,43	7,9	9,9	9,1
Корнифин-альфа	-109,26	0,0	0,0	0,2

**Пример 6. Снижение содержания НСР в способах очистки МАТ 7 (Антитело 201с в патенте США № 10647759)**

5 Препарат МАТ 7 (антитело 201с в патенте США № 10647759) (LC представляет собой SEQ ID NO: 25; НС представляет собой SEQ ID NO: 26) готовят с использованием этапов, по существу описанных выше в отношении МАТ 5, со следующими незначительными отличиями:

**Захват белка:**

Колонка с белком А: MabSelect SuRe

10 Загрузка: 20-40 г/л

Элюирование: 20 мМ уксусной кислоты/5 мМ лимонной кислоты

**Вирусная инактивация при низком рН и нейтрализация:**

Титрант: 20 мМ уксусной кислоты/5 мМ лимонной кислоты, рН 3,45

Время: 180 мин

Нейтрализация: pH 5,0, 500 mM трис-основания

**Анионообменная хроматография:**

Смола: POROS 50 XQ;

5 Загрузка: загрузка 100-200 г/л

pH: 7,0

**Катионообменная хроматография:**

Смола: POROS 50 HS

Загрузка: 20-40 г/л

10 Содержание НСР измеряли с помощью ЖХ-МС, как описано в Примере 5. Для партии 1 МАТ 7 и партии 2 МАТ 7 содержание НСР измеряли после этапа захвата белка, после вирусной инактивации при низком pH, после АОХ, после КОХ и после ТФФ. Результаты представлены в **Таблицах 8a и 8b**

**Таблица 8a: Внутрипроизводственное содержание НСР для партии 1 МАТ 7 по данным ЖХ-МС**

15

НСР ID	Оценка EpiMatrix	Содержание НСР после захвата белка (м.д.)	Содержание НСР после вирусной инактивации при низком pH (м.д.)	Содержание НСР после АОХ (м.д.)	Содержание НСР после КОХ (м.д.)	Содержание НСР после ТФФ (м.д.)
<b>Общее содержание</b>	Неприменимо	14581	66,4	63,7	4	1,2
Полиубиквитин	40,81	29,2	39	49	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения

Лизосомальный защитный белок	29,45	12,5	Ниже предела количественного определения			
Глутатион-S-трансфераза Y1	24,04	Ниже предела количественного определения				
40S рибосомный белок S28	-9,16	1	Ниже предела количественного определения			
Изоформа X1 тиоредоксина	-15,94	4	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	1	1
Изоформа X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны	-29,68	2241	11	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения

Белок, подобный антигену тубулоинтерстициального нефрита	-35,46	226	5	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
Актин - неполная цитоплазматическая 2 изоформа X2	-38,94	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	2	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
Галектин-1	-45,49	32,6	1	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
Пероксиредоксин-1	-50,43	183,2	7	10	3	Ниже предела количественного определения
Корнифин-альфа	-109,26	46,8	4	2	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения

**Таблица 8b: Внутрипроизводственное содержание НСР для партии 2 МАТ 7 по данным ЖХ-МС**

НСР ID	Оценка EpiMatrix	Содержание НСР после захвата белка (м.д.)	Содержание НСР после вирусной инактивации при низком pH (м.д.)	Содержание НСР после АОХ (м.д.)	Содержание НСР после КОХ (м.д.)	Содержание НСР после TFF (м.д.)
<b>Общее содержание</b>	Неприменимо	8761	70,8	106,5	7,7	0
Полиубиквитин	40,81	17	48	76	7	1
Лизосомальный защитный белок	29,45	23	10	7	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
Глутатион-S-трансфераза Y1	24,04	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	1	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
40S рибосомный белок S28	-9,16	1	1	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
Изоформа X1 тиоредоксина	-15,94	3	Ниже предела количественного	3	1	Ниже предела количественного

НСП ID	Оценка EpiMatrix	Содержание НСП после захвата белка (м.д.)	Содержание НСП после вирусной инактивации при низком pH (м.д.)	Содержание НСП после АОХ (м.д.)	Содержание НСП после КОХ (м.д.)	Содержание НСП после TFF (м.д.)
			енного определения			енного определения
Изоформа X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны	-29,68	951	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
Белок, подобный антигену тубулоинтерстициального нефрита	-35,46	148	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
Актин - неполная цитоплазматическая 2 изоформа X2	-38,94	398	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
Галектин-1	-45,49	14	Ниже предела количественного	Ниже предела количественного	Ниже предела количественного	Ниже предела количественного

НСП ID	Оценка EpiMatrix	Содержание НСП после захвата белка (м.д.)	Содержание НСП после вирусной инактивации при низком рН (м.д.)	Содержание НСП после АОХ (м.д.)	Содержание НСП после КОХ (м.д.)	Содержание НСП после TFF (м.д.)
			определен ия	определен ия	определен ия	определен ия
Пероксиредоксин-1	-50,43	86	9	13	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения
Корнифин-альфа	-109,26	50	3	7	Ниже предела количественного определения	Ниже предела количественного определения

**Пример 7. Влияние типа глубинного фильтра и рН на снижение содержания НСП во время глубинной фильтрации - МАТ 5 (донанемаб) и МАТ 6**

**Часть А – Влияние рН на снижение содержания НСП**

5 Два антитела (МАТ 5 и МАТ 6) готовят, используя этап захвата белка по существу так же, как описано для МАТ 1 в Примере 1, за исключением того, что этап элюирования выполняют с использованием буферных систем, показанных в **Таблице 9**. Общее содержание НСП измеряют с помощью ИФА, что дает диапазон от примерно 2800 до примерно 3200 м.д. После захвата белка выполняют этап вирусной инактивации при  
10 низком рН по существу так же, как описано для МАТ 1 в Примере 1, с последующим этапом нейтрализации либо при рН 5,0, либо при рН 7,0 с использованием 500 мМ трис-основного буфера без доведения рН. Этап глубинной фильтрации выполняют по существу так же, как описано для МАТ 1 в Примере 1, с использованием глубинного фильтра X0SP

при загрузке 1000 г/м<sup>2</sup>. Содержание НСР после этапа глубинной фильтрации измеряют с помощью ИФА.

Результаты в **Таблице 9** показывают значительное снижение общего содержания НСР до менее чем  $\leq 50$  м.д. для обоих антител после глубинной фильтрации, когда рН смеси, нанесенной на глубинный фильтр, составляет рН 7,0. Общее содержание НСР снижается в меньшей степени, когда рН смеси, нанесенной на глубинный фильтр, составляет рН 5,0.

**Таблица 9. Уровни НСР в препаратах МАТ 5 (донанемаба) и МАТ 6 после элюирования с белка А и глубинной фильтрации**

Антитело	Буфер для элюирования с белка А	рН материала, нанесенного на глубинный фильтр	Содержание НСР после глубинной фильтрации
<b>МАТ 5 (донанемаб)</b>	20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ молочной кислоты	рН 5	231
		рН 7	45
	20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ фосфорной кислоты	рН 5	229
		рН 7	13
<b>МАТ 6</b>	20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ молочной кислоты	рН 5	338
		рН 7	41
	20 мМ уксусной кислоты + 5 мМ фосфорной кислоты	рН 5	331
		рН 7	9

10

Часть В: Влияние глубинного фильтра и рН на снижение содержания НСР для МАТ 5

МАТ 5 готовят, используя этап захвата белка по существу так же, как описано в Примере 5. Элюат подвергают вирусной инаktivации при низком рН и нейтрализации, как по существу описано в Примере 5. Для этапа глубинной фильтрации оценивали четыре различных условия рН и глубинного фильтра:

- (i) Фильтр В1НС + рН 5,1
  - (ii) Фильтр Х0SP + рН 5,1
  - (iii) Фильтр Х0SP + рН 6,2
  - (iv) Фильтр Х0SP + рН 7,3
- 20 (i) Фильтр В1НС + рН 5,1

МАТ 5 готовят, используя этап захвата белка по существу так же, как описано в Примере 5. 500 мл помещают в стеклянный стакан и перемешивают тefлоновой мешалкой. Концентрация белка в элюате с белка А составляет 12,5 мг/мл. При 500 мл в стакане общее содержание белка составляет 6250 мг (12,5 мг/мл x 500 мл = 6250 мг).

Начальный рН раствора в стакане составляет 3,98 (температура = 18,1°C). рН доводят до 3,45 с использованием 20 мМ уксусной кислоты/5 мМ лимонной кислоты для выполнения этапа вирусной инактивации при низком рН по существу так же, как описано в Примере 5.

5 Пока продолжается этап вирусной инактивации при низком рН устанавливают фильтр В1НС (микромодуль или 23 см<sup>2</sup>, партия СР7НА77798, часть МВ1НС23СL3). Используется силиконовая трубка, отвержденная платиной, 14 размера со скрининговой перистальтической фильтрующей насосной системой PendoTech (К434694) с весами ОНАУС Scout (К434696 - К434699). Все фильтры промывают РWТR при 23 мл/мин  
10 (примерно 600 LMН) по 230 мл на фильтр или 100 л/м<sup>2</sup>.

Нейтрализация до рН 5,0 достигается с использованием 0,25 М трис-основания (EL19562-368, LB213, годен до 4/15/2020). Раствор становится мутным, когда рН достигает 5, и конечный измеренный рН составляет 5,09 (5,1). Расчетная концентрация составляет 7,27 мг/мл (6250 мг/860 мл при рН 5). При перемешивании раствора с рН 5  
15 начинают фильтрацию через фильтр В1НС с загрузкой 997 г/м<sup>2</sup> (309 мл x 7,27 мг/мл = 2,246 г/0,0023 м<sup>2</sup> = 997 г/м<sup>2</sup>). Фильтр В1НС промывают для восстановления 45 мл РWТR. Фильтры по существу прокачиваются до сухости после восстанавливающей промывки. Конечный объем В1НС составляет 375,5 мл при 5,13 мг/мл, обеспечивая 85,8% выход равный 1,926 г.

20 (ii) Фильтр X0SP + рН 5,1 или рН 6,3 или рН 7,2

МАТ 5 готовят, используя этап захвата белка по существу так же, как описано в Примере 5. 500 мл помещают в стеклянный стакан и перемешивают тефлоновой мешалкой. Концентрация белка в элюате с белка А составляет 15,75 мг/мл. При 500 мл в стакане общее содержание белка составляет 7875 мг (15,75 мг/мл x 500 мл = 7875 мг).

25 Начальный рН раствора в стакане составляет 4,05 (температура = 18,1°C). рН доводят до 3,45 с использованием 20 мМ уксусной кислоты/5 мМ лимонной кислоты для выполнения этапа вирусной инактивации при низком рН по существу так же, как описано в Примере 5.

Пока продолжается этап вирусной инактивации при низком рН три фильтра X0SP  
30 (микромодуль или 23 см<sup>2</sup>, партия СР9АА93251, кат. МХ0SP23СL3) устанавливают и промывают по отдельности, как описано выше.

Нейтрализация достигается при использовании 0,25 М трис-основания (EL19562-368, LB213, годен до 4/15/2020):

35 В первом стакане рН довели до 5,1 с использованием 20 мл 250 мМ трис-основания. Расчетная концентрация составляет 9,04 мг/мл.

Во втором стакане рН довели до 6,3 с использованием 27 мл 250 мМ трис-основания. Расчетная концентрация составляет 8,82 мг/мл.

В третьем стакане рН довели до 7,2 с использованием 32 мл 250 мМ трис-основания. Расчетная концентрация составляет 8,67 мг/мл.

5           Осадок при рН 6,3 и 7,2 казался слизистым (поскольку он прилипал ко дну стекла к концу фильтрации) и, возможно, больше по размеру, чем при рН 5,1.

Фильтрацию через фильтры X0SP начинают во время перемешивания трех растворов.

10           X0SP с рН 5,0 достиг 25 фунтов на квадратный дюйм при загрузке 203 мл, а затем был переключен на восстанавливающую промывку водой. Загрузка рассчитана как  $798 \text{ г/м}^2$  ( $9,04 \text{ мг/мл} \times 203 \text{ мл} = 1,835 \text{ г/0,0023 м}^2 = 798 \text{ г/м}^2$ ).

Фильтры промывают для восстановления ~45 мл PWTR. Фильтры по существу прокачиваются до сухости после восстанавливающей промывки.

15           Конечный объем для X0SP при рН 5,1 = 278 мл при 5,89 мг/мл = 1,637 г. Выход =  $1,637 \text{ г/1,835} = 89,2\%$

Конечный объем для X0SP при рН 6,3 = 365 мл при 5,76 мг/мл = 1 г. Выход =  $2,102 \text{ г/2,58} = 81,5\%$

Конечный объем для X0SP при рН 7,2 = 365 мл при 5,52 мг/мл =  $2,015 \text{ г/2,58} = 78,1\%$

20           (iii) *Анионообменная хроматография*

Каждый из препаратов для глубинной фильтрации подвергают АОХ по существу, как описано в Примере 5. Для всех препаратов для загрузки в АОХ рН фильтрата при рН 5 и фильтрата при рН 6 (не фильтрат при рН 7,2) довели до 7,25 с использованием 250 мМ трис-основания (партия EL19562-368, LB213, годен до 4-15-20, для использования при разработке), а затем добавляли NaCl до конечной концентрации 50 мМ, используя 20 мМ Трис, 1 М NaCl, рН 7,0 (EL19562-862 LB198, годен до 9-30-2020) в 0,0526-кратном объеме при рН 7,25. Все препараты для загрузки готовят в стеклянном стакане с мешалкой. 600 мг каждого фильтрата использовали, чтобы загрузить АОХ одинаковым количеством. Все рН для загрузки АОХ были между 7,1 и 7,3, и все значения проводимости составили  $6,5 \pm 0,2 \text{ мСм}$ .

30           Конечные объемы АОХ МС (при рН 5), концентрация МАТ 5, общее содержание в мг и выход были следующими:

1.       Материал В1НС - 155 мл при 3,91 мг/мл = 606,1 мг или 101%
2.       X0SP при рН 5,1 - 120 мл при 5,00 мг/мл = 600 мг или 100%
3.       X0SP при рН 6,3 - 121 мл при 4,96 мг/мл = 600,2 мг или 100%

35

4. X0SP при pH 7,2 - 126 мл при 4,79 мг/мл = 603,5 мг или 100,6%

(iii) *Катионообменная хроматография*

Каждый из препаратов для АОХ подвергают катионообменной хроматографии, по существу как описано в Примере 5. Фактические загрузки на смолу для КОХ являются следующими:

(i) Препарат В1НС при 3,91 мг/мл загруженном объеме 130 мл x 0,85 = 110,5 мл = 432,1/17,28 = 25,0 мг/мл

(i) X0SP при pH 5 при 5,00 мг/мл загруженном объеме 101,7 мл x 0,85 = 86,4 мл = 432/17,28 = 25,0 мг/мл

10 (iii) X0SP при pH 6,3 при 4,96 мг/мл загруженном объеме = 102,5 x 0,85 = 87,1 мл = 432,0/17,28 мг = 25,0 мг/мл

(iv) X0SP при pH 7,2 при 4,79 мг/мл загруженном объеме = 106,1 x 0,85 = 90,2 мл = 432,1/17,28 = 25,0 мг/мл

15 Объемы основного потока КОХ, концентрация и выходы для каждого условия являются следующими:

(i) В1НС при pH 5,0 при 5,83 мг/мл x объем МС = 64,1 мл объем МС = 373 мг/432,1 мг = 86,3%

(ii) X0SP при pH 5 при 5,83 мг/мл x 64,8 мл объем МС = 377,8 мг/432 мг = 87,5%

20 (iii) X0SP при pH 6,3 при 5,80 мг/мл = 64,8 мл объем МС = 375,8 мг/432,0 мг = 87,0%

(iv) X0SP при pH 7,2 при 5,80 мг/мл = 64,7 мл объем МС = 375,3 мг/432,1 мг = 86,9%

(v) *Анализ содержания НСР методом ЖХ-МС*

25 Препараты КОХ анализируют на содержание НСР с использованием ЖХ-МС, по существу как описано в Примере 5. Данные ЖХ-МС представлены в **Таблице 10**.

**Таблица 10. Содержание белков клетки-хозяина в препарате МАТ 5 (донанемаба) после захвата белка, этапа вирусной инактивации при низком pH, этапа нейтрализации и глубинной фильтрации**

НСР ID	EpiMatrix	Нейтрализация pH			
		~5,0 В1НС	~5,0 X0SP	~6,0 X0SP	~7,0 X0SP
<b>Общее содержание</b>	Неприменимо	85,4 м.д.	48,8 м.д.	42,1 м.д.	48,4 м.д.
Белок S100-A6	52,84	0,3 м.д.	0,2 м.д.	0,1 м.д.	0,1 м.д.

НСР ID		Нейтрализация рН			
Белок S100-A11	48,79	0,4 м.д.	0,3 м.д.	0,2 м.д.	0,2 м.д.
Белок 2, подобный фосфолипазе В	32,89	1,5 м.д.	0,8 м.д.	0,6 м.д.	0,7 м.д.
Лизосомальный защитный белок	29,45	6,2 м.д.	0,4 м.д.	0,01 м.д.	0,01 м.д.
Убиквитин-40S рибосомный белок S27a	1,9	5,1 м.д.	5,7 м.д.	5,1 м.д.	5,1 м.д.
Калликреин-11	-12,83	-	2,7 м.д.	0 м.д.	0 м.д.
Изоформа X1 сериновой протеазы HTRA1	-13	1,9 м.д.	0,1 м.д.	Н/О или ниже предела количественного определения	0,0 м.д.
Изоформа X1 тиоредоксина	-15,94	2,8 м.д.	2,7 м.д.	2,4 м.д.	2,3 м.д.
Субкомпонент комплемента C1r	-23,01	8,7 м.д.	11,5 м.д.	11,6 м.д.	16,3 м.д.
Актин, изоформа X1 гладких мышц аорты	-34,63	4,1 м.д.	2,3 м.д.	2,1 м.д.	2,1 м.д.
Галектин-1	-45,49	0,4 м.д.	0,4 м.д.	0,3 м.д.	0,5 м.д.
Когнатный белок теплового шока 71 кДа	-47,2	4,6 м.д.	2,6 м.д.	2,9 м.д.	2,4 м.д.
Пероксиредоксин-1	-50,43	21,7 м.д.	8,3 м.д.	4,3 м.д.	4,2 м.д.
Корнифин-альфа	-109,26	0,2 м.д.	0,2 м.д.	Н/О или ниже предела количественного определения	0,1 м.д.

Данные в **Таблице 10** показывают значительное снижение общего содержания НСР до менее  $\leq 50$  м.д. после глубинной фильтрации с помощью фильтра XOSP при всех

протестированных значениях рН. Это выгодно отличается от снижения содержания НСР после глубинной фильтрации с помощью фильтра ВНС. Также следует отметить, что выход после этапа глубинной фильтрации ниже при рН 6,3 и 7,2 по сравнению с более низким рН 5,1. Следовательно, снижение содержания НСР при высоком рН может быть нивелировано потерей выхода. Оптимальная производительность наблюдается при использовании фильтра X0SP при рН 5,0.

**Пример 8. Метод определения ионной силы во время способов очистки биомолекул**

Описан способ оценки ионной силы, основанный на том, что известно о буферных композициях во время отдельных способов очистки биомолекул. Ионная сила ( $I$ ) раствора является мерой концентрации ионов в этом растворе и является функцией концентрации соединения,  $c_i$ , и суммарного заряда,  $z_i$ , для всех соединений. Для определения ионной силы используют Формулу I.

$$I = \frac{1}{2} \sum_i c_i z_i^2 \quad (1)$$

**Сильные электролиты:** для сильных электролитов в низких концентрациях (например, ниже 50 мМ) предполагается полная диссоциация. При полной диссоциации композиция легко рассчитывается, что упрощает расчеты ионной силы. Например, раствор 50 мМ NaCl диссоциирует с образованием 50 мМ каждого из  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  с ионной силой  $0,5 \times [50 \text{ мМ} \times 1^2 + 50 \text{ мМ} \times (-1)^2] = 50 \text{ мМ}$ . В качестве другого примера, 50 мМ  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  диссоциирует с образованием 100 мМ  $\text{Na}^+$  и 50 мМ  $\text{SO}_4^{2-}$ , что дает ионную силу  $0,5 \times [100 \text{ мМ} \times 1^2 + 50 \text{ мМ} \times (-2)^2] = 150 \text{ мМ}$ . При отсутствии буферных соединений в этих расчетах ожидается почти нейтральный рН, так что концентрации ионов в результате диссоциации воды не вносят значимого вклада в ионную силу. Константа диссоциации воды принята равной  $K_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = 10^{-14}$  с  $[\text{H}^+] = 10^{-\text{pH}}$ , где квадратные скобки указывают концентрации. Для целей расчетов в данном документе не требуется физическая интерпретация ионов  $\text{H}^+$  (в отличие, например, от ионов гидроксония), а также нет необходимости различать концентрацию и активность  $\text{H}^+$ .

**Буферные системы:** для буферных систем нельзя предполагать полную диссоциацию. Константы кислотной диссоциации буферов должны использоваться для определения доли буфера в кислотной и основной формах. Для родовой кислоты HA, которая диссоциирует на  $\text{H}^+$  и  $\text{A}^-$ , Формула 2 относится к константе кислотной диссоциации,  $K_a$ , и концентрациям соединений:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad (2)$$

Константа кислотной диссоциации часто используется в логарифмической форме  $pK_a = -\log_{10}(K_a)$ . Термодинамическое значение  $pK_a$ , обозначаемое как  $pK_{a,0}$ , доступно в литературе для многих представляющих интерес буферов. Однако эффективная  $pK_a$  буфера отличается от термодинамического значения, за исключением очень разбавленного раствора, из-за отклонения коэффициентов активности от единицы. В случае умеренно разбавленных растворов, рассматриваемых в данном раскрытии, для учета коэффициентов активности, отличных от единицы, использовали расширенное уравнение Дебая-Хюккеля или уравнение Дэвиса. Значения некоторых констант, найденных в литературе, могут незначительно отличаться, но давать сходные результаты в диапазоне значений ионной силы, представляющих интерес в настоящем изобретении. Расширенное уравнение Дебая-Хюккеля представлено в виде Формулы 3:

$$pK_a = pK_{a,0} + \frac{0,51n\sqrt{I}}{1 + 1,6\sqrt{I}} \quad (3)$$

Уравнение Дэвиса представлено в виде Формулы 4:

$$pK_a = pK_{a,0} + 0,51n \left( \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} - 0,3\sqrt{I} \right) \quad (4)$$

где  $n = 2z - 1$ , и  $z$  представляет собой суммарный заряд кислой буферной формы для расчета  $n$  (Scopes, Protein Purification: Principles and Practices, 2013).

Поскольку  $pK_a$  является функцией ионной силы, композиция и ионная сила не могут быть определены независимо, а являются частью системы уравнений. Система уравнений включает вышеупомянутые уравнения для ионной силы, константы кислотной диссоциации для каждого буфера и уравнения  $pK_a$  для каждого буфера, а также включает условие электронейтральности и общий баланс соединений для каждого буфера. С помощью этой системы уравнений можно оценить несколько значений. Например, известное значение рН раствора можно использовать для оценки кислотно-щелочного соотношения для буферного состава или, наоборот, кислотно-щелочное соотношение можно использовать для оценки рН раствора и соответствующих объемов титрования. В любом из этих приложений можно оценить ионную силу, чтобы помочь в рациональном выборе вариантов элюента и титранта.

Для расчета ионной силы, относящейся к буферным системам в настоящем изобретении, например, ионной силы исходного материала для глубоинной фильтрации, необходима буферная композиция раствора. Эту композицию можно обоснованно оценить на основании объемов и композиций буферов и титрантов, используемых в

способе. Для оценки композиции также могут быть использованы методики измерения ионов, известные в данной области техники.

В качестве отправной точки для оценки композиции раствора одна из возможных методологий состоит в том, чтобы предположить, что пул элюатов с аффинной колонки имеет буферную композицию, идентичную таковой элюента, за исключением того, что она забуферена при измеренном рН пула элюатов. Например, если представляющий интерес белок элюируют из колонки с белком А с использованием 20 мМ уксусной кислоты, 5 мМ молочной кислоты и пул элюатов имеет измеренный рН 4,2, то можно предположить, что буферная композиция пула элюатов представляет собой 20 мМ ацетата, 5 мМ лактата и достаточное количество NaOH, чтобы довести рН до 4,2; это будет соответствовать примерно ~8,2 мМ NaOH. Поскольку для расчета важно только общее содержание катионов натрия,  $Na^+$ , не имеет значения, исходит ли содержание натрия в элюате, как предполагается, из ацетата натрия, фосфата натрия, гидроксида натрия или любой их комбинации, поэтому правило об отнесении натрия к NaOH используется для удобства.

После использования композиции элюента и рН элюата для оценки буферной композиции элюата затем рассматривают титрования раствора. Например, в случае оцененной композиции элюата 20 мМ ацетата, 5 мМ лактата, ~8,2 мМ NaOH при рН 4,2, если объем 20 мМ HCl, необходимый для снижения рН до целевого значения 3,45 для вирусной инактивации, был равен начальному объему, умноженному на 0,305, то композиция этого промежуточного продукта способа при рН 3,45 будет известна из разбавления. Ацетат, лактат и NaOH будут присутствовать в количествах, соответствующих исходным значениям, умноженным на 1/1,305 (т. е. ~15,3 мМ ацетата, ~3,8 мМ лактата и ~6,2 мМ NaOH), а HCl будет присутствовать в 0,305/1,305-кратном количестве от его значения в титранте (~4,7 мМ HCl). Аналогичным образом, для нейтрализации с использованием 250 мМ трис-основания, если соотношение для повышения рН до целевого значения рН 7,0 представляло собой 0,0743-кратное значение от объема раствора рН 3,45, то для определения конечных концентраций в нейтрализованном растворе будут применяться соотношения 1/1,0743 и 0,0743/1,0743 (~14,3 мМ ацетата, ~3,6 мМ лактата, ~5,8 мМ NaOH, ~4,4 мМ HCl и ~17,3 мМ триса). Все известные значения подставляются в систему уравнений (Формулы 5-15) для расчета ионной силы:

$$I = \frac{1}{2} ([H^+] \cdot f_1^2 + [Na^+] \cdot f_1^2 + [ТрисH^+] \cdot f_1^2 + [OH^-] \cdot f_1^2 + [Ацетат^-] \cdot f_1^2 + [Лактат^-] \cdot f_1^2 + [Cl^-] \cdot f_1^2) \quad (5)$$

$$[H^+] + [Na^+] + [ТрисH^+] = [OH^-] + [Ацетат^-] + [Ацетат^-] + [Cl^-] \quad (6)$$

$$K_{a, \text{трис}} = \frac{[H^+][\text{трис}]}{[\text{трис}H^+]} \quad (7)$$

$$pK_{a, \text{трис}} = pK_{a,0, \text{трис}} + 0,51(2 \cdot \{+1\} - 1) \left( \frac{\sqrt{I}}{1+\sqrt{I}} - 0,3\sqrt{I} \right) \quad (8)$$

$$K_{a, \text{Ацетат}} = \frac{[H^+][\text{Ацетат}^-]}{[H\text{Ацетат}]} \quad (9)$$

$$pK_{a, \text{Ацетат}} = pK_{a,0, \text{Ацетат}} + 0,51(2 \cdot \{-1\} - 1) \left( \frac{\sqrt{I}}{1+\sqrt{I}} - 0,3\sqrt{I} \right) \quad (10)$$

$$K_{a, \text{Лактат}} = \frac{[H^+][\text{Лактат}^-]}{[H\text{Лактат}]} \quad (11)$$

$$pK_{a, \text{Лактат}} = pK_{a,0, \text{Лактат}} + 0,51(2 \cdot \{-1\} - 1) \left( \frac{\sqrt{I}}{1+\sqrt{I}} - 0,3\sqrt{I} \right) \quad (12)$$

$$\text{Всего трис} = [\text{трис}] + [\text{трис}H^+] \quad (13)$$

$$\text{Всего ацетат} = [H\text{Ацетат}] + [\text{Ацетат}^-] \quad (14)$$

$$\text{Всего лактат} = [H\text{Лактат}] + [\text{Лактат}^-] \quad (15)$$

5

где соответствующие значения  $pK_{a,0}$  для триса, ацетата и лактата были приняты равными 8,15, 4,76 и 3,86 при 22°C. Полученная оценка ионной силы исходного материала для глубинной фильтрации составляет 22,1 мМ.

Как описано в настоящей заявке, буферная емкость белкового продукта напрямую не моделируется. Таким образом, при использовании сильной кислоты или основания для титрования могут возникать некоторые расхождения между расчетами и эмпирическими результатами титрования. Например, при титровании элюата с белка А до низкого рН для вирусной инактивации расчеты буфера обычно занижают необходимое эмпирическое количество 20 мМ HCl; необходимое эмпирическое количество может быть примерно на 50% больше рассчитанной оценки. Один из способов учета этого различия состоит в том, чтобы смоделировать материал элюата аффинной колонки при более высоком рН, эмпирически корректируя значение до тех пор, пока оцененный объем титрования не совпадет с экспериментальным значением. Например, в приведенном выше примере, если количество 20 мМ HCl было на 50% выше соотношения 0,305, чем первоначально оценивалось, элюат с белка А будет моделироваться, как имеющий рН примерно 4,45 вместо рН 4,2. В результате этого эмпирического изменения в моделировании расчетная ионная сила в примере направленно снижается, но лишь на небольшую величину: 21,9 мМ, что ниже исходной оценки 22,1 мМ. Соответственно, делается вывод, что любой подход достаточен для оценки ионной силы, чтобы сделать вывод о предпочтительных вариантах реализации настоящего изобретения.

25

*Альтернативные методы:* Чтобы определить буферную композицию исходного материала для глубинной фильтрации можно использовать методы измерения содержания ионов для расчета ионной силы. Это требует подтверждения того, что измерения дают самосогласованные результаты с любыми известными количествами, такими как количества добавленного титранта. Поскольку предполагается, что буферная композиция элюата аффинной колонки эквивалентна таковой элюента, но с другим рН, различие в истинной композиции можно определить путем измерений содержания ионов. Например, для расчета ионной силы буферных компонентов в элюенте можно использовать либо количество, основанное на композиции элюента, либо измеренное значение.

#### 10 **ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ**

Все патенты и публикации, на которые приводятся ссылки в настоящей заявке, настоящим полностью включены посредством ссылки. Публикации, обсуждаемые в настоящей заявке, представлены исключительно по причине их раскрытия до даты подачи настоящей заявки. Ничто в настоящем описании не должно быть истолковано как признание того, что настоящее изобретение не имеет права предшествовать такой публикации в силу предшествующего изобретения.

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ**

В раскрытие данного изобретения включены ссылки на нижеследующие нуклеиновые и/или аминокислотные последовательности, и они приводятся ниже для справки.

**SEQ ID NO: 1 – переменная тяжелая цепь (VH) бамланивимаба**

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN  
YAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYYEARHYYYYYAMDVWG  
QGTAVTVSS

10 **SEQ ID NO: 2 – переменная легкая цепь (VL) бамланивимаба**

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR  
FSGSGSGTDFTLTITSLQPEDFATYYCQQSYSTPRTFGQGTKVEIK

**SEQ ID NO: 3 – тяжелая цепь (HC) бамланивимаба**

15 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIAN  
YAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYYEARHYYYYYAMDVWG  
QGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV  
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP  
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN  
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR  
20 EPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS  
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

**SEQ ID NO: 4 – легкая цепь (LC) бамланивимаба**

25 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR  
FSGSGSGTDFTLTITSLQPEDFATYYCQQSYSTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE  
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYSLSSLTLS  
KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**SEQ ID NO: 5 – переменная тяжелая цепь (VH) этесевимаба**

30 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTF  
YADSVKGRFTISRDNMNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCARVLPYMGDYLDYWGQGTLV  
TVSS

**SEQ ID NO: 6 – переменная легкая цепь (VL) этесевимаба**

DIVMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS  
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPEYTFGQGTKLEIKRTV

**SEQ ID NO: 7 – тяжелая цепь (HC) этесевимаба**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTF  
YADSVKGRFTISRDNMNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCARVLP MYGDYLDYWGQGTLV  
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV  
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE  
5 AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP  
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY  
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK  
LTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

**SEQ ID NO: 8 – легкая цепь (LC) этесевимаба**

10 DIVMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQISIRYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS  
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPEYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP  
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSST  
LTLTKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**SEQ ID NO: 9 – переменная тяжелая цепь (VH) бейтеловимаба**

15 QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLISG VGVGWL RQPPGKALEWLALIYWDDDKR  
YPSLKSRLTISKDTSKNQVVLKMTNIDPVDATYYCAHHSISTIFDHWGQGT LVTVSS

**SEQ ID NO: 10 – переменная легкая цепь (VL) бейтеловимаба**

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTATSSDVG DYNVSWYQQHPGKAPKLMIFEVSDRPSGI  
SNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTTSSAVFGGGTKLTVL

20 **SEQ ID NO: 11 – тяжелая цепь (HC) бейтеловимаба**

QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLISG VGVGWL RQPPGKALEWLALIYWDDDKR  
YPSLKSRLTISKDTSKNQVVLKMTNIDPVDATYYCAHHSISTIFDHWGQGT LVTVSSA  
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG  
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP  
25 SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR  
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK  
SRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

**SEQ ID NO: 12 – легкая цепь (LC) бейтеловимаба**

30 QSALTQPASVSGSPGQSITISCTATSSDVG DYNVSWYQQHPGKAPKLMIFEVSDRPSGI  
SNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTTSSAVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTL  
FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASS  
YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

**SEQ ID NO: 13 - LCVR донанемаба**

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLWLLQKPGQSPQLLIYAVSKLDS  
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIK

**SEQ ID NO:14 - HCVR донанемаба**

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGN  
5 TKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGITVYWGQGTITVTVSS

**SEQ ID NO:15 - LC донанемаба**

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLWLLQKPGQSPQLLIYAVSKLDS  
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVF  
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYSL  
10 SSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**SEQ ID NO:16 - HC донанемаба**

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGSGN  
TKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGITVYWGQGTITVTVSSA  
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG  
15 LYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGP  
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR  
DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK  
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

**SEQ ID NO:17 - LCDR1 донанемаба**

KSSQSLLYSRGKTYLN

**SEQ ID NO:18 - LCDR2 донанемаба**

AVSKLDS

**SEQ ID NO:19 - LCDR3 донанемаба**

25 VQGTHYPFT

**SEQ ID NO:20 - HCDR1 донанемаба**

GYDFTRYIN

**SEQ ID NO: 21 - HCDR2 донанемаба**

WINPGSGNTKYNEKFKG

**SEQ ID NO:22: HCDR3 донанемаба**

EGITVY

**SEQ ID NO:23 - LCVR антителя 201c (MAT 7)**

DIQMTQSPSTLSASVGRVTITCRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASTLESQV  
SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIK

**SEQ ID NO:24 - HCVR антителя 201c (MAT 7)**

35

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY  
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYWGQGT  
LVTVSS

**SEQ ID NO: 25 - LC антитела 201с (MAT 7)**

5 DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSLGNWLAWYQQKPKAPKLLIYQASTLESGVP  
SRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP  
SDEQLKSGTASVCLLNFPYQKQWVVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSST  
LTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**SEQ ID NO:26 - HC антитела 201с (MAT 7)**

10 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY  
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYWGQGT  
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP  
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA  
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK  
15 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV  
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS  
KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

**SEQ ID NO:27 - LCDR1 антитела 201с (MAT 7)**

RASQSLGNWLA

20 **SEQ ID NO:28 - LCDR2 антитела 201с (MAT 7)**

YQASTLES

**SEQ ID NO: 29 - LCDR3 антитела 201с (MAT 7)**

QHYKGSFWT

**SEQ ID NO:30 - HCDR1 антитела 201с (MAT 7)**

25 AASGFTFSSYPMS

**SEQ ID NO:31 - HCDR2 антитела 201с (MAT 7)**

AISGSGGSTYYADSVKG

**SEQ ID NO:32 - HCDR3 антитела 201с (MAT 7)**

AREGGSGSYNGFDY

30 **SEQ ID NO:33 - последовательность ДНК LC донанемаба**

gatattgtgatgactcagactccactctccctgtccgtcaccctggacagccggcctccatctcctgcaagtcaagtcagagcctcttatata  
gtcgcggaaaaacctatttgaattggctcctgcagaagccaggccaatctccacagctcctaatttatgcggtgtctaaactggactctgggg  
tccagacagattcagcggcagtggtcaggcacagattcacactgaaaatcagcagggtggaggccgaagatgtgggggtttactg  
cgtgcaaggtacacattaccattcacgtttggccaagggaaccaagctggagatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttccc  
35 gccatctgatgagcagtgaaacttggaactgcctctgtgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggt

ggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctg  
acgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaagagctt  
caacaggggagagtgc

**SEQ ID NO: 34 - последовательность ДНК НС донанемаба**

5 cagggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcagtgaaagtttctgcaaggcatctggttacgacttactag  
atactatataaactgggtgacagggcccctggacaagggcttgagtgatgggatggattaatcctggaagcggtaataactaagtacaatg  
agaaattcaaggcagagtcaccattaccgcgacgaatccacgagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacag  
gccgtgtattactgtgcgagagaaggcatcacggttactggggccaagggaccacgggtcaccgtctcctcagcctccaccaagggcca  
tcggtcttcccgtagcaccctcctccaagagcacctctggggcacagcggcctgggtgcctggtcaaggactacttcccgaaccg  
10 gtgacggtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttccggctgtcctacagtcctcaggacttactccctcagca  
gctggtgacgtgcccctcagcagcttgggacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaag  
aaagttagcccaaatcttgacaaaactcacatgccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagtttcttctccc  
cccaaaaccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtgggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtca  
agttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgaggagcagtagacaacagcacgtaccgtgtggtc  
15 agcgtctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcga  
gaaaaccatctccaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggacgagctgaccaagaacca  
ggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactaca  
agaccacgccccctgctggactccgacggctccttctctctatagaagctcacctggacaagagcaggtggcagcaggggaac  
gtcttctcatgctcctgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagccttccctgtctccgggt

**SEQ ID NO:35 - последовательность ДНК LC антитела 201c**

gacatccagatgaccagctcctccaccctgtctgcatctgtaggagacagagtcacccatcacttgccgggaccagtcagagcttggtaac  
tggtggcctggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaaactcctgatctatcaggcgtctactttagaatctggggctccatcaagattc  
agcggcagtggtatctgggacagagttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgatttgcaacttattactgccaacattataaaggt  
cttttgacgttcggccaagggaccaaggtggaaatcaaacggaccgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcag  
25 tgaatctggaactgcctctgtgtgtcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaaggtggataacgccctccat  
cgggtaactcccaggagagtgacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcag  
actacgagaacacaaagtctacgcctgcgaagtacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaagagcttcaacaggggagagtg  
SEQ ID NO:36 - последовательность ДНК НС антитела 201c

gaggtgcagctgtggagctgggggaggcttggtacagcctgggggtcctgagactctcctgtgcagcctctggattcacctttagcag  
30 ctatcctatgagctgggtccgccaggctccaggggaaggggctggagtgggtctcagctattagtggtagtggttagcacatactacgca  
gactccgtgaaggccgggtcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacag  
gccgtatattactgtgcgagagaggggggctcagggagtattataacggctttgattattggggccagggaaacctgggtaccgtctcctca  
gcctccaccaagggccatcggtcttcccgtagcaccctcctccaagagcacctctggggggcacagcggcctgggtgcctggtcaa  
ggactacttcccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtctca  
35 ggacttactcctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagc

aacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaatctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctgggggga  
ccgtcagtcttctcttcccccaaaaccaaggacaccctcatgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagcc  
acgaagaccctgaggtcaagtcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaa  
cagcacgtaccgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctcaacaaagc  
5 cctcccagccccatcgagaaaaccatctcaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggac  
gagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatgccgtggagtgggagagcaatgggca  
gccggagaacaactacaagaccacgccccctgctggactccgacggctccttctctctatagcaagctaccgtggacaagagcag  
gtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggt

### Формула изобретения

1. Способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu A $\beta$ , полученное рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, причем указанный способ включает этапы:
  - 5 а. обработки указанного белкового препарата на колонке для аффинной хроматографии;
  - б. элюирования указанного антитела к N3pGlu A $\beta$  из хроматографической колонки комбинацией кислот, состоящей из слабой кислоты и сильной кислоты, с получением элюата, содержащего указанное антитело к N3pGlu A $\beta$ ;
  - 10 в. повышения рН указанного элюата выше примерно рН 5,0; и
  - д. обработки указанного элюата на глубинном фильтре и получения отфильтрованного белкового препарата.
2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанная хроматографическая колонка включает колонку для аффинной хроматографии с белком А, белком G или белком L.
- 15 3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанная слабая кислота и указанная сильная кислота представляют собой одновалентную кислоту с рН до примерно 7,3.
4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанная слабая кислота представляет собой уксусную кислоту, и указанная сильная кислота представляет собой фосфорную кислоту или молочную кислоту.
- 20 5. Способ по п. 4, отличающийся тем, что концентрация указанной уксусной кислоты составляет примерно 20 мМ, и тем, что указанная сильная кислота представляет собой фосфорную кислоту, и при этом концентрация указанной фосфорной кислоты составляет от примерно 5 мМ до примерно 10 мМ.
6. Способ по п. 4, отличающийся тем, что концентрация указанной уксусной кислоты составляет примерно 20 мМ, и тем, что указанная сильная кислота представляет собой молочную кислоту, и при этом концентрация указанной молочной кислоты составляет примерно 5 мМ.
- 25 7. Способ по п. 1, дополнительно включающий этап выполнения вирусной инактивации.
8. Способ по п. 1, дополнительно включающий этап выполнения вирусной инактивации, включающий доведение рН элюата с указанного этапа элюирования белка из хроматографической колонки до рН ниже примерно 4,0, и при этом указанный элюат поддерживают при рН ниже примерно 4,0 в течение от примерно 0 минут до примерно 180 минут.
- 30 9. Способ по п. 8, отличающийся тем, что указанный этап доведения рН элюата включает доведение рН указанного элюата до уровня от примерно рН 3,3 до примерно рН 3,7.
- 35

10. Способ по п. 9, отличающийся тем, что указанный рН указанного элюата доводят до примерно рН 3,5.
11. Способ по любому из пп. 8-10, отличающийся тем, что доведение рН указанного элюата включает добавление любой из HCl, фосфорной кислоты или комбинации уксусной кислоты и фосфорной кислоты.
12. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный этап повышения рН указанного элюата включает повышение рН до уровня от примерно рН 6,5 до примерно рН 7,5.
13. Способ по п. 12, отличающийся тем, что указанный рН указанного элюата повышают до примерно рН 7,0.
14. Способ по любому из пп. 12 или 13, отличающийся тем, что указанный этап повышения рН указанного элюата включает добавление триса.
15. Способ по любому из пп. 1-14, отличающийся тем, что указанный элюат на указанном этапе повышения рН выше примерно 5,0 имеет ионную силу от примерно 10 мМ до примерно 45 мМ.
16. Способ по любому из пп. 1-15, дополнительно включающий обработку указанного белкового препарата, подвергнутого глубинной фильтрации, на одном или более из следующих этапов очистки и/или заключительной очистки с получением препарата лекарственного вещества, содержащего антитело к N3pGlu Aβ: вирусной инактивации, ионообменной хроматографии, вирусной фильтрации, фильтрации с тангенциальным потоком.
17. Способ по любому из пп. 1-16, отличающийся тем, что указанный глубинный фильтр представляет собой фильтр на основе целлюлозы/диатомовой земли.
18. Способ по п. 17, отличающийся тем, что указанный глубинный фильтр представляет собой фильтр В1НС, фильтр X0НС или фильтр Zeta Plus (ZB Media).
19. Способ по любому из пп. 1-16, отличающийся тем, что указанный глубинный фильтр представляет собой синтетический фильтр.
20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что указанный глубинный фильтр представляет собой фильтр C0SP, фильтр X0SP или фильтр Emphaze AEX Hybrid Purifier.
21. Способ по п. 20, отличающийся тем, что указанный глубинный фильтр представляет собой фильтр X0SP.
22. Способ по любому из пп. 17-21, отличающийся тем, что размер пор указанного глубинного фильтра составляет по меньшей мере от примерно 9 мкм до примерно 0,1 мкм.
23. Способ по п. 22, отличающийся тем, что размер пор указанного глубинного фильтра составляет по меньшей мере от примерно 2 мкм до примерно 0,1 мкм.

24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что размер пор указанного глубинного фильтра составляет примерно 0,1 мкм.
25. Способ по любому из пп. 1-24, отличающийся тем, что указанный рН элюата на глубинном фильтре составляет примерно 5,0.
- 5 26. Способ по любому из пп. 1-24, отличающийся тем, что указанный рН элюата на глубинном фильтре составляет примерно 6,0.
27. Способ по любому из пп. 1-24, отличающийся тем, что указанный рН элюата на глубинном фильтре составляет примерно 7,0.
28. Способ по любому из пп. 1-27, отличающийся тем, что указанная клетка  
10 млекопитающего представляет собой клетку СНО.
29. Способ по любому из пп. 1-28, отличающийся тем, что указанный белковый препарат содержит собранную жидкость культуры клеток, захваченный пул или извлеченный пул белка.
30. Способ по любому из пп. 1-29, отличающийся тем, что указанное антитело к N3pGlu  
15 A $\beta$  представляет собой моноклональное антитело, химерное антитело, гуманизированное антитело, человеческое антитело, биспецифичное антитело или фрагмент антитела.
31. Способ по п. 30, отличающийся тем, что указанное антитело к N3pGlu A $\beta$  представляет собой антитело IgG1.
- 20 32. Способ по любому из пп. 1-31, отличающийся тем, что указанное антитело к N3pGlu A $\beta$  содержит тяжелую цепь (HC) и легкую цепь (LC), причем указанная легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная  
25 HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO:17), LCDR2 представляет собой AVSKLDS (SEQ ID NO:18), LCDR3 представляет собой VQGTHYPFT (SEQ ID NO:19), HCDR1 представляет собой GYDFTRYIN (SEQ ID NO:20), HCDR2 представляет собой WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO:21), и  
30 HCDR3 представляет собой EGITVY (SEQ ID NO:22).
33. Способ по п. 32, отличающийся тем, что указанная LC антитела к N3pGlu A $\beta$  содержит LCVR, и указанная HC антитела к N3pGlu A $\beta$  содержит HCVR, причем указанная LCVR  
представляет собой  
DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSK  
35 LDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGKLEIK (SEQ

ID NO:13) и указанная HCVR представляет собой QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGS GNTKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCAREGITVYWGQGTTV TVSS (SEQ ID NO: 14).

- 5 34. Способ по п. 32 или п. 33, отличающийся тем, что указанная LC антитела к N3pGlu A $\beta$  представляет собой
- DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSK  
LDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIKRTV  
AAPSVMFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD  
10 SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:  
15) и указанная HC антитела к N3pGlu A $\beta$  представляет собой
- QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGS  
GNTKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCAREGITVYWGQGTTV  
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP  
15 AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKKVEPKSCDKTHTCPP  
CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH  
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG  
QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVL  
DSDGSSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID  
20 NO: 16).
35. Способ по п. 34, отличающийся тем, что указанное антитело к N3pGlu A $\beta$  представляет собой донанемаб.
36. Способ по любому из пп. 32-35, отличающийся тем, что указанное содержание белка клетки-хозяина в указанном отфильтрованном белковом препарате составляет менее  
25 100 м.д. (как измерено с помощью ЖХ-МС).
37. Способ по любому из пп. 32-36, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит один из белков, комбинации белков или все из  
следующих белков клетки-хозяина: белок S100-A6, белок S100-A11, белок 2, подобный фосфолипазе В, лизосомальный защитный белок, убиквитин-40S  
30 рибосомный белок S27a, калликреин-11, изоформу X1 сериновой протеазы HTRA1, субкомпонент комплемента C1r, актин, изоформу X1 гладких мышц аорты, когнатный белок теплового шока 71 кДа и пероксиредоксин-1.
38. Способ по п. 37, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. белка S100-A6 (как измерено с помощью  
35 ЖХ-МС).

39. Способ по п. 37 или п. 38, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. белка S100-A11 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
40. Способ по любому из пп. 37-39, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 10 м.д. белка 2, подобного фосфолипазе В (как измерено с помощью ЖХ-МС).
41. Способ по любому из пп. 37-40, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. лизосомального защитного белка (как измерено с помощью ЖХ-МС).
42. Способ по любому из пп. 37-41, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. убиквитин-40S рибосомного белка S27a (как измерено с помощью ЖХ-МС).
43. Способ по любому из пп. 37-42, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. калликреина-11 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
44. Способ по любому из пп. 37-43, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
45. Способ по любому из пп. 37-44, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. субкомпонента комплемента C1r (как измерено с помощью ЖХ-МС).
46. Способ по любому из пп. 37-45, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. актина, изоформы X1 гладких мышц аорты (как измерено с помощью ЖХ-МС).
47. Способ по любому из пп. 37-46, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. актина, изоформы X1 гладких мышц аорты (как измерено с помощью ЖХ-МС).
48. Способ по любому из пп. 37-47, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. когнатного белка теплового шока 71 кДа (как измерено с помощью ЖХ-МС).
49. Способ по любому из пп. 37-48, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. пероксиредоксина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).

50. Способ по любому из пп. 32-35, отличающийся тем, что указанное содержание белка клетки-хозяина в препарате лекарственного вещества составляет менее 100 м.д. (как измерено с помощью ЖХ-МС).
51. Способ по любому из пп. 32-35 и 50, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит один из белков, комбинации белков или все из следующих белков клетки-хозяина: белок S100-A6, белок S100-A11, белок 2, подобный фосфолипазе В, лизосомальный защитный белок, убиквитин-40S рибосомный белок S27a, калликреин-11, изоформу X1 сериновой протеазы HTRA1, субкомпонент комплемента C1r, актин, изоформу X1 гладких мышц аорты, когнатный белок теплового шока 71 кДа и пероксиредоксин-1.
52. Способ по п. 51, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. белка S100-A6 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
53. Способ по п. 51 или п. 52, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. белка S100-A11 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
54. Способ по любому из пп. 51-53, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 10 м.д. белка 2, подобного фосфолипазе В (как измерено с помощью ЖХ-МС).
55. Способ по любому из пп. 51-54, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. лизосомального защитного белка (как измерено с помощью ЖХ-МС).
56. Способ по любому из пп. 51-55, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. убиквитин-40S рибосомного белка S27a (как измерено с помощью ЖХ-МС).
57. Способ по любому из пп. 51-56, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. калликреина-11 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
58. Способ по любому из пп. 51-57, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
59. Способ по любому из пп. 51-58, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. субкомпонента комплемента C1r (как измерено с помощью ЖХ-МС).

60. Способ по любому из пп. 51-59, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. актина, изоформы Х1 гладких мышц аорты (как измерено с помощью ЖХ-МС).
61. Способ по любому из пп. 51-60, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. актина, изоформы Х1 гладких мышц аорты (как измерено с помощью ЖХ-МС).
62. Способ по любому из пп. 51-61, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. когнатного белка теплового шока 71 кДа (как измерено с помощью ЖХ-МС).
63. Способ по любому из пп. 51-62, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. пероксиредоксина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
64. Способ по любому из пп. 1-31, отличающийся тем, что указанное антитело к N3pGlu Aβ содержит тяжелую цепь (HC) и легкую цепь (LC), причем указанная легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой RASQSLGNWLA (SEQ ID NO: 27), LCDR2 представляет собой YQASTLES (SEQ ID NO: 28). LCDR3 представляет собой QHYKGSFWT (SEQ ID NO: 29), HCDR1 представляет собой AASGFTFSSYPMS (SEQ ID NO: 30), HCDR2 представляет собой AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 31) и HCDR3 представляет собой AREGGSGSYNGFDY (SEQ ID NO: 32).
65. Способ по п. 64, отличающийся тем, что указанная LC антитела к N3pGlu Aβ содержит LCVR, и указанная HC антитела к N3pGlu Aβ содержит HCVR, причем указанная LCVR представляет собой DIQMTQSPSTLSASVGDRVITTCRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:23) и указанная HCVR представляет собой EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYW GQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 24).
66. Способ по п. 64 или п. 65, отличающийся тем, что указанная LC антитела к N3pGlu Aβ представляет собой DIQMTQSPSTLSASVGDRVITTCRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASTLESG

VPSRFGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIKRTVAAPSV  
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS  
YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 25) и  
указанная HC антитела к N3pGlu Aβ представляет собой  
5 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGS  
TYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYW  
GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT  
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD  
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY  
10 VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE  
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN  
YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG  
(SEQ ID NO: 26).

67. Способ по любому из пп. 64-66, отличающийся тем, что указанное содержание белка  
15 клетки-хозяина в указанном отфильтрованном белковом препарате составляет менее  
10 м.д. (как измерено с помощью ЖХ-МС).
68. Способ по любому из пп. 64-67, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный  
белковый препарат содержит один из белков, комбинации белков или все из  
следующих белков клетки-хозяина: полиубиквитин, лизосомальный защитный белок,  
20 глутатион-S-трансферазу Y1, 40S рибосомный белок S28, изоформу X1 тиоредоксина,  
изоформу X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана,  
специфического для базальной мембраны, белок, подобный антигену  
тубулоинтерстициального нефрита, актин – неполную цитоплазматическую 2  
изоформу X2, галектин-1, пероксиредоксин-1 и корнифин-альфа.
- 25 69. Способ по п. 68, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый  
препарат содержит менее примерно 1 м.д. полиубиквитина (как измерено с помощью  
ЖХ-МС).
70. Способ по п. 68 или 69, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный  
белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. лизосомального защитного белка  
30 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
71. Способ по любому из пп. 68-70, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный  
белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. глутатион-S-трансферазы Y1 (как  
измерено с помощью ЖХ-МС).

72. Способ по любому из пп. 68-71, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белок содержит менее примерно 1 м.д. глутатион-S-трансферазы Y1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
73. Способ по любому из пп. 68-72, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. 40S рибосомного белка S28 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
74. Способ по любому из пп. 68-73, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. изоформы X1 тиоредоксина (как измерено с помощью ЖХ-МС).
75. Способ по любому из пп. 68-74, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. изоформы X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны (как измерено с помощью ЖХ-МС).
76. Способ по любому из пп. 68-75, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. белка, подобного антигену тубулоинтерстициального нефрита (как измерено с помощью ЖХ-МС).
77. Способ по любому из пп. 68-76, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. актина - неполной цитоплазматической 2 изоформы X2 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
78. Способ по любому из пп. 68-77, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. галектина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
79. Способ по любому из пп. 68-78, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. пероксиредоксина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
80. Способ по любому из пп. 68-79, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. корнифина-альфа (как измерено с помощью ЖХ-МС).
81. Способ по любому из пп. 64-66, отличающийся тем, что указанное содержание белка клетки-хозяина в препарате лекарственного вещества составляет менее 10 м.д. (как измерено с помощью ЖХ-МС).
82. Способ по любому из пп. 64-66 и 81, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит один из белков, комбинации белков или все из следующих белков клетки-хозяина: полиубиквитин, лизосомальный защитный белок, глутатион-S-трансферазу Y1, 40S рибосомный белок S28, изоформу X1 тиоредоксина,

изоформу X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны, белок, подобный антигену тубулоинтерстициального нефрита, актин – неполную цитоплазматическую 2 изоформу X2, галектин-1, пероксиредоксин-1 и корнифин-альфа.

- 5 83. Способ по п. 82, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. полиубиквитина (как измерено с помощью ЖХ-МС).
84. Способ по п. 82 или 83, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. лизосомального защитного белка (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 10 85. Способ по любому из пп. 82-84, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. глутатион-S-трансферазы Y1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
86. Способ по любому из пп. 82-85, отличающийся тем, что указанное лекарственное вещество содержит менее примерно 1 м.д. глутатион-S-трансферазы Y1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 15 87. Способ по любому из пп. 82-86, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. 40S рибосомного белка S28 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
88. Способ по любому из пп. 82-87, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. изоформы X1 тиоредоксина (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 20 89. Способ по любому из пп. 82-88, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. изоформы X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 25 90. Способ по любому из пп. 82-89, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. белка, подобного антигену тубулоинтерстициального нефрита (как измерено с помощью ЖХ-МС).
91. Способ по любому из пп. 82-90, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. актина - неполной цитоплазматической 2 изоформы X2 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 30 92. Способ по любому из пп. 82-91, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. галектина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).

93. Способ по любому из пп. 82-92, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. пероксиредоксина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
94. Способ по любому из пп. 82-93, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. корнифина-альфа (как измерено с помощью ЖХ-МС).
95. Композиция, полученная способом по любому из пп. 1-94.
96. Способ снижения содержания белка клетки-хозяина в белковом препарате, содержащем антитело к N3pGlu A $\beta$ , полученном рекомбинантным путем в клетке-хозяине млекопитающего, отличающийся тем, что указанный способ включает этапы:
- а) обработки указанного белкового препарата на колонке для аффинной хроматографии;
  - б) элюирования указанного антитела к N3pGlu A $\beta$  из хроматографической колонки с получением элюата, содержащего указанное антитело к N3pGlu A $\beta$ ;
  - в) доведения, при необходимости, рН указанного элюата до уровня от рН 5,0 до рН 7,5, обработки указанного элюата на глубинном фильтре и получения отфильтрованного белкового препарата, при этом указанный глубинный фильтр представляет собой полностью синтетический глубинный фильтр.
97. Способ по п. 96, отличающийся тем, что указанная хроматографическая колонка включает колонку для аффинной хроматографии с белком А, белком G или белком L.
98. Способ по п. 96 или 97, отличающийся тем, что размер пор указанного глубинного фильтра составляет по меньшей мере от примерно 9 мкм до примерно 0,1 мкм.
99. Способ по п. 98, отличающийся тем, что размер пор указанного глубинного фильтра составляет по меньшей мере от примерно 2 мкм до примерно 0,1 мкм.
100. Способ по п. 99, отличающийся тем, что размер пор указанного глубинного фильтра составляет примерно 0,1 мкм.
101. Способ по любому из пп. 96-100, отличающийся тем, что указанный глубинный фильтр представляет собой фильтр X0SP.
102. Способ по любому из пп. 96-101, отличающийся тем, что указанный рН элюата на глубинном фильтре составляет примерно 5,0.
103. Способ по любому из пп. 96-101, отличающийся тем, что указанный рН элюата на глубинном фильтре составляет примерно 6,0.
104. Способ по любому из пп. 96-101, отличающийся тем, что указанный рН элюата на глубинном фильтре составляет примерно 7,0.

105. Способ по любому из пп. 96-104, отличающийся тем, что указанная клетка млекопитающего представляет собой клетку СНО.
106. Способ по любому из пп. 96-105, отличающийся тем, что указанный белковый препарат содержит собранную жидкость культуры клеток, захваченный пул или  
5 извлеченный пул белка.
107. Способ по любому из пп. 96-106, отличающийся тем, что указанное антитело к N3pGlu A $\beta$  представляет собой моноклональное антитело, химерное антитело, гуманизированное антитело, человеческое антитело, биспецифичное антитело или фрагмент антитела.
- 10 108. Способ по п. 107, отличающийся тем, что указанное антитело к N3pGlu A $\beta$  представляет собой антитело IgG1.
109. Способ по любому из пп. 96-108, отличающийся тем, что указанное антитело к N3pGlu A $\beta$  содержит тяжелую цепь (HC) и легкую цепь (LC), причем указанная легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь  
15 содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности Lcdr1, Lcdr2 и Lcdr3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности Hcdr1, Hcdr2 и Hcdr3, при этом Lcdr1 представляет собой KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO:17), Lcdr2 представляет собой AVSKLDS (SEQ ID NO:18), Lcdr3 представляет собой  
20 VQGTHYPFT (SEQ ID NO:19), Hcdr1 представляет собой GYDFTRYIN (SEQ ID NO:20), Hcdr2 представляет собой WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO:21), и Hcdr3 представляет собой EGITVY (SEQ ID NO:22).
110. Способ по п. 109, отличающийся тем, что указанная LC антитела к N3pGlu A $\beta$  содержит LCVR, и указанная HC антитела к N3pGlu A $\beta$  содержит HCVR, причем  
25 указанная LCVR представляет собой  
DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSK  
LDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:13) и указанная HCVR представляет собой  
30 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGS  
GNTKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGITVYWGQGT  
TVSS (SEQ ID NO: 14).
111. Способ по п. 109 или п. 110, отличающийся тем, что указанная LC антитела к N3pGlu A $\beta$  представляет собой  
35 DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSK  
LDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIKRTV

AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD  
SKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:  
15) и указанная HC антитела к N3pGlu Aβ представляет собой  
QVQLVQSGAEVVKKPGSSVKVSCKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGS  
5 GNTKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGITVYWGQGTTV  
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPP  
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP  
CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH  
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG  
10 QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVL  
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID  
NO: 16).

112. Способ по п. 111, отличающийся тем, что указанное антитело к N3pGlu Aβ представляет собой донанемаб.
- 15 113. Способ по любому из пп. 109-112, отличающийся тем, что указанное содержание белка клетки-хозяина в указанном отфильтрованном белковом препарате составляет менее 100 м.д. (как измерено с помощью ЖХ-МС).
114. Способ по любому из пп. 109-113, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит один из белков, комбинации белков  
20 или все из следующих белков клетки-хозяина: белок S100-A6, белок S100-A11, белок 2, подобный фосфолипазе В, лизосомальный защитный белок, убиквитин-40S рибосомный белок S27а, калликреин-11, изоформу X1 сериновой протеазы HTRA1, субкомпонент комплемента C1г, актин, изоформу X1 гладких мышц аорты, когнатный белок теплового шока 71 кДа и пероксиредоксин-1.
- 25 115. Способ по п. 114, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. белка S100-A6 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
116. Способ по п. 114 или п. 115, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. белка S100-A11 (как измерено с  
30 помощью ЖХ-МС).
117. Способ по любому из пп. 114-116, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 10 м.д. белка 2, подобного фосфолипазе В (как измерено с помощью ЖХ-МС).

118. Способ по любому из пп. 114-117, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. лизосомального защитного белка (как измерено с помощью ЖХ-МС).
119. Способ по любому из пп. 114-118, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. убиквитин-40S рибосомного белка S27a (как измерено с помощью ЖХ-МС).
120. Способ по любому из пп. 114-119, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. калликреина-11 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
121. Способ по любому из пп. 114-120, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
122. Способ по любому из пп. 114-121, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. субкомпонента комплемента C1r (как измерено с помощью ЖХ-МС).
123. Способ по любому из пп. 114-122, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. актина, изоформы X1 гладких мышц аорты (как измерено с помощью ЖХ-МС).
124. Способ по любому из пп. 114-123, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. актина, изоформы X1 гладких мышц аорты (как измерено с помощью ЖХ-МС).
125. Способ по любому из пп. 114-124, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. когнатного белка теплового шока 71 кДа (как измерено с помощью ЖХ-МС).
126. Способ по любому из пп. 114-125, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 5 м.д. пероксиредоксина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
127. Способ по любому из пп. 109-112, отличающийся тем, что указанное содержание белка клетки-хозяина в препарате лекарственного вещества составляет менее 100 м.д. (как измерено с помощью ЖХ-МС).
128. Способ по любому из пп. 109-112 и 127, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит один из белков, комбинации белков или все из следующих белков клетки-хозяина: белок S100-A6, белок S100-A11, белок 2, подобный фосфолипазе В, лизосомальный защитный белок, убиквитин-40S рибосомный белок S27a, калликреин-11, изоформу X1 сериновой протеазы HTRA1,

субкомпонент комплемента C1r, актин, изоформу X1 гладких мышц аорты, когнатный белок теплового шока 71 кДа, пероксиредоксин-1.

- 5 129. Способ по п. 128, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. белка S100-A6 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
130. Способ по п. 128 или п. 129, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. белка S100-A11 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 10 131. Способ по любому из пп. 128-130, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 10 м.д. белка 2, подобного фосфолипазе B (как измерено с помощью ЖХ-МС).
132. Способ по любому из пп. 128-131, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. лизосомального защитного белка (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 15 133. Способ по любому из пп. 128-132, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. убиквитин-40S рибосомного белка S27a (как измерено с помощью ЖХ-МС).
134. Способ по любому из пп. 128-133, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. калликреина-11 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 20 135. Способ по любому из пп. 128-134, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
136. Способ по любому из пп. 128-135, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. субкомпонента комплемента C1r (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 25 137. Способ по любому из пп. 128-136, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. актина, изоформы X1 гладких мышц аорты (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 30 138. Способ по любому из пп. 128-137, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. актина, изоформы X1 гладких мышц аорты (как измерено с помощью ЖХ-МС).
139. Способ по любому из пп. 128-138, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. когнатного белка теплового шока 71 кДа (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 35

140. Способ по любому из пп. 128-139, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 5 м.д. пероксиредоксина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
141. Способ по любому из пп. 96-108, отличающийся тем, что указанное антитело к N3pGlu A $\beta$  содержит тяжелую цепь (HC) и легкую цепь (LC), причем указанная легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой RASQSLGNWLA (SEQ ID NO: 27), LCDR2 представляет собой YQASTLES (SEQ ID NO: 28). LCDR3 представляет собой QHYKGSFWT (SEQ ID NO: 29), HCDR1 представляет собой AASGFTFSSYPMS (SEQ ID NO: 30), HCDR2 представляет собой AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 31) и HCDR3 представляет собой AREGGSGSYNGFDY (SEQ ID NO: 32).
142. Способ по п. 141, отличающийся тем, что указанная LC антитела к N3pGlu A $\beta$  содержит LCVR, и указанная HC антитела к N3pGlu A $\beta$  содержит HCVR, причем указанная LCVR представляет собой DIQMTQSPSTLSASVGDRVTTITCRASQSLGNWLAWYQQKPKGKAPKLLIYQASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:23) и указанная HCVR представляет собой EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGS TYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYW GQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 24).
143. Способ по п. 141 или п. 142, отличающийся тем, что указанная LC антитела к N3pGlu A $\beta$  представляет собой DIQMTQSPSTLSASVGDRVTTITCRASQSLGNWLAWYQQKPKGKAPKLLIYQASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDISTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 25) и указанная HC антитела к N3pGlu A $\beta$  представляет собой EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGS TYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY

VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE  
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN  
YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG  
(SEQ ID NO: 26).

- 5 144. Способ по любому из пп. 141-143, отличающийся тем, что указанное содержание белка клетки-хозяина в указанном отфильтрованном белковом препарате составляет менее 10 м.д. (как измерено с помощью ЖХ-МС).
145. Способ по любому из пп. 141-144, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит один из белков, комбинации белков  
10 или все из следующих белков клетки-хозяина: полиубиквитин, лизосомальный защитный белок, глутатион-S-трансферазу Y1, 40S рибосомный белок S28, изоформу X1 тиоредоксина, изоформу X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны, белок, подобный антигену тубулоинтерстициального нефрита, актин – неполную цитоплазматическую 2  
15 изоформу X2, галектин-1, пероксиредоксин-1 и корнифин-альфа.
146. Способ по п. 145, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. полиубиквитина (как измерено с помощью ЖХ-МС).
147. Способ по п. 145 или 146, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный  
20 белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. лизосомального защитного белка (как измерено с помощью ЖХ-МС).
148. Способ по любому из пп. 145-147, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. глутатион-S-трансферазы Y1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 25 149. Способ по любому из пп. 145-148, отличающийся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 1 м.д. глутатион-S-трансферазы Y1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
150. Способ по любому из пп. 145-149, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. 40S  
30 рибосомного белка S28 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
151. Способ по любому из пп. 145-150, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. изоформы X1 тиоредоксина (как измерено с помощью ЖХ-МС).
152. Способ по любому из пп. 145-151, отличающийся тем, что указанный  
35 отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. изоформы X1

корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны (как измерено с помощью ЖХ-МС).

- 5 153. Способ по любому из пп. 145-152, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. белка, подобного антигену тубулоинтерстициального нефрита (как измерено с помощью ЖХ-МС).
154. Способ по любому из пп. 145-153, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. актина - неполной цитоплазматической 2 изоформы X2 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 10 155. Способ по любому из пп. 145-154, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. галектина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
156. Способ по любому из пп. 145-155, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. пероксиредоксина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 15 157. Способ по любому из пп. 145-156, отличающийся тем, что указанный отфильтрованный белковый препарат содержит менее примерно 1 м.д. корнифина-альфа (как измерено с помощью ЖХ-МС).
158. Способ по любому из пп. 141-143, отличающийся тем, что указанное содержание белка клетки-хозяина в препарате лекарственного вещества составляет менее 10 м.д. (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 20 159. Способ по любому из пп. 141-143 и 158, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит один из белков, комбинации белков или все из следующих белков клетки-хозяина: полиубиквитин, лизосомальный защитный белок, глутатион-S-трансферазу Y1, 40S рибосомный белок S28, изоформу X1 тиоредоксина, изоформу X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны, белок, подобный антигену тубулоинтерстициального нефрита, актин - неполную цитоплазматическую 2 изоформу X2, галектин-1, пероксиредоксин-1 и корнифин-альфа.
- 25 160. Способ по п. 159, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. полиубиквитина (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 30 161. Способ по п. 158 или 160, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. лизосомального защитного белка (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 35

162. Способ по любому из пп. 158-161, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. глутатион-S-трансферазы Y1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
163. Способ по любому из пп. 158-162, отличающийся тем, что указанное  
5 лекарственное вещество содержит менее примерно 1 м.д. глутатион-S-трансферазы Y1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
164. Способ по любому из пп. 158-163, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. 40S рибосомного белка S28 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 10 165. Способ по любому из пп. 158-164, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. изоформы X1 тиоредоксина (как измерено с помощью ЖХ-МС).
166. Способ по любому из пп. 158-165, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. изоформы X1 корового  
15 белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной мембраны (как измерено с помощью ЖХ-МС).
167. Способ по любому из пп. 158-166, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. белка, подобного антигену тубулоинтерстициального нефрита (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 20 168. Способ по любому из пп. 158-167, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. актина - неполной цитоплазматической 2 изоформы X2 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
169. Способ по любому из пп. 158-168, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. галектина-1 (как измерено с  
25 помощью ЖХ-МС).
170. Способ по любому из пп. 158-169, отличающийся тем, что указанный препарат лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. пероксиредоксина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
171. Способ по любому из пп. 158-170, отличающийся тем, что указанный препарат  
30 лекарственного вещества содержит менее примерно 1 м.д. корнифина-альфа (как измерено с помощью ЖХ-МС).
172. Композиция, полученная способом по любому из пп. 96-171.
173. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело, которое связывается с  
35 человеческим N3pGlu A $\beta$  (антитело к N3pGlu A $\beta$ ), отличающаяся тем, что указанное антитело к N3pGlu A $\beta$  получено способом, включающим очистку указанного антитела

к N3pGlu из клетки-хозяина млекопитающего, и при этом указанное общее содержание белков клетки-хозяина (НСР) в указанной композиции составляет менее примерно 100 м.д. (как измерено с помощью ЖХ-МС).

- 5 174. Фармацевтическая композиция по п. 173, отличающаяся тем, что указанная клетка млекопитающего представляет собой клетку СНО.
175. Фармацевтическая композиция по п. 173 или п. 174, отличающаяся тем, что указанное антитело к N3pGlu A $\beta$  представляет собой моноклональное антитело, химерное антитело, гуманизированное антитело, человеческое антитело, биспецифичное антитело или фрагмент антитела.
- 10 176. Фармацевтическая композиция по п. 175, отличающаяся тем, что указанное антитело к N3pGlu A $\beta$  представляет собой антитело IgG1.
- 15 177. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 173-176, отличающаяся тем, что указанное антитело к N3pGlu A $\beta$  содержит тяжелую цепь (HC) и легкую цепь (LC), причем указанная легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой KSSQSLLYSRGKTYLN (SEQ ID NO:17), LCDR2 представляет собой AVSKLDS (SEQ ID NO:18), LCDR3 представляет собой VQGTHYPFT (SEQ ID NO:19), HCDR1 представляет собой GYDFTRYIN (SEQ ID NO:20), HCDR2 представляет собой WINPGSGNTKYNEKFKG (SEQ ID NO:21), и HCDR3 представляет собой EGITVY (SEQ ID NO:22).
- 20 178. Фармацевтическая композиция по п. 177, отличающаяся тем, что указанная LC антитела к N3pGlu A $\beta$  содержит LCVR, и указанная HC антитела к N3pGlu A $\beta$  содержит HCVR, причем указанная LCVR представляет собой DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSK LD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGGQTKLEIK (SEQ ID NO:13) и указанная HCVR представляет собой
- 30 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGS GNTKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREGITVYWGQGTTV TVSS (SEQ ID NO: 14).
- 35 179. Фармацевтическая композиция по п. 177 или п. 178, отличающаяся тем, что указанная LC антитела к N3pGlu A $\beta$  представляет собой DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAVSK

LDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEIKRTV  
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD  
SKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:  
15) и указанная НС антитела к N3pGlu Aβ представляет собой  
5 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINPGS  
GNTKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGITVYWGQGTTV  
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP  
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKKVEPKSCDKTHTCPP  
CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH  
10 NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG  
QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL  
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID  
NO: 16).

180. Фармацевтическая композиция по п. 179, отличающаяся тем, что указанное  
15 антитело к N3pGlu Aβ представляет собой донанемаб.
181. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 173-180, отличающаяся тем, что  
указанная композиция содержит один из белков, комбинации белков или все из  
следующих белков клетки-хозяина: белок S100-A6, белок S100-A11, белок 2,  
подобный фосфолипазе В, лизосомальный защитный белок, убиквитин-40S  
20 рибосомный белок S27a, калликреин-11, изоформу X1 сериновой протеазы HTRA1,  
субкомпонент комплемента C1r, актин, изоформу X1 гладких мышц аорты, когнатный  
белок теплового шока 71 кДа и пероксиредоксин-1.
182. Фармацевтическая композиция по п. 181, отличающаяся тем, что указанная  
композиция содержит менее примерно 5 м.д. белка S100-A6 (как измерено с помощью  
25 ЖХ-МС).
183. Фармацевтическая композиция по п. 181 или п. 182, отличающаяся тем, что  
указанная композиция содержит менее примерно 5 м.д. белка S100-A11 (как измерено  
с помощью ЖХ-МС).
184. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 181-183, отличающаяся тем, что  
30 указанная композиция содержит менее примерно 10 м.д. белка 2, подобного  
фосфолипазе В (как измерено с помощью ЖХ-МС).
185. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 181-184, отличающаяся тем, что  
указанная композиция содержит менее примерно 5 м.д. лизосомального защитного  
белка (как измерено с помощью ЖХ-МС).

186. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 181-185, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 5 м.д. убиквитин-40S рибосомного белка S27a (как измерено с помощью ЖХ-МС).
187. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 181-186, отличающаяся тем, что 5 указанная композиция содержит менее примерно 5 м.д. калликреина-11 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
188. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 181-187, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 5 м.д. изоформы X1 сериновой протеазы HTRA1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 10 189. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 181-188, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 5 м.д. субкомпонента комплемента C1r (как измерено с помощью ЖХ-МС).
190. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 181-189, отличающаяся тем, что 15 указанная композиция содержит менее примерно 5 м.д. актина, изоформы X1 гладких мышц аорты (как измерено с помощью ЖХ-МС).
191. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 181-190, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 5 м.д. актина, изоформы X1 гладких 15 мышц аорты (как измерено с помощью ЖХ-МС).
192. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 181-191, отличающаяся тем, что 20 указанная композиция содержит менее примерно 5 м.д. когнатного белка теплового шока 71 кДа (как измерено с помощью ЖХ-МС).
193. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 181-192, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 5 м.д. пероксиредоксина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 25 194. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 173-176, отличающаяся тем, что указанное антитело к N3pGlu A $\beta$  содержит тяжелую цепь (HC) и легкую цепь (LC), причем указанная легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), и указанная тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), при этом указанная LCVR содержит аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 30 и LCDR3, и указанная HCVR содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, при этом LCDR1 представляет собой RASQSLGNWLA (SEQ ID NO: 27), LCDR2 представляет собой YQASTLES (SEQ ID NO: 28). LCDR3 представляет собой QHYKGSFWT (SEQ ID NO: 29), HCDR1 представляет собой AASGFTFSSYPMS (SEQ ID NO: 30), HCDR2 представляет собой

AISGSGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 31) и HCDR3 представляет собой AREGGSGSYNGFDY (SEQ ID NO: 32).

195. Фармацевтическая композиция по п. 194, отличающаяся тем, что указанная LC антитела к N3pGlu A $\beta$  содержит LCVR, и указанная HC антитела к N3pGlu A $\beta$  содержит HCVR, причем указанная LCVR представляет собой DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASTLESG VPSRFGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:23) и указанная HCVR представляет собой EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGS TYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYW GQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 24).

196. Фармацевтическая композиция по п. 194 или п. 195, отличающаяся тем, что указанная LC антитела к N3pGlu A $\beta$  представляет собой DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASTLESG VPSRFGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DST YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 25) и указанная HC антитела к N3pGlu A $\beta$  представляет собой EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGS TYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNGFDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 26).

197. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 194-196, отличающаяся тем, что указанное общее содержание белков клетки-хозяина (HCP) в указанной композиции составляет менее примерно 10 м.д. (как измерено с помощью ЖХ-МС).

198. Фармацевтическая композиция по п. 197, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит один из белков, комбинации белков или все из следующих белков клетки-хозяина: полиубиквитин, лизосомальный защитный белок, глутатион-S-трансферазу Y1, 40S рибосомный белок S28, изоформу X1 тиоредоксина, изоформу X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для

базальной мембраны, белок, подобный антигену тубулоинтерстициального нефрита, актин – неполную цитоплазматическую 2 изоформу X2, галектин-1, пероксиредоксин-1 и корнифин-альфа.

- 5 199. Фармацевтическая композиция по п. 198, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 1 м.д. полиубиквитина (как измерено с помощью ЖХ-МС).
200. Фармацевтическая композиция по п. 198 или 199, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 1 м.д. лизосомального защитного белка (как измерено с помощью ЖХ-МС).
- 10 201. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 198-200, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 1 м.д. глутатион-S-трансферазы Y1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
202. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 198-201, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 1 м.д. глутатион-S-трансферазы Y1  
15 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
203. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 198-202, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 1 м.д. 40S рибосомного белка S28 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
204. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 198-203, отличающаяся тем, что  
20 указанная композиция содержит менее примерно 1 м.д. изоформы X1 тиоредоксина (как измерено с помощью ЖХ-МС).
205. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 198-204, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 1 м.д. изоформы X1 корового белка гепарансульфат-содержащего протеогликана, специфического для базальной  
25 мембраны (как измерено с помощью ЖХ-МС).
206. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 198-205, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 1 м.д. белка, подобного антигену тубулоинтерстициального нефрита (как измерено с помощью ЖХ-МС).
207. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 198-206, отличающаяся тем, что  
30 указанная композиция содержит менее примерно 1 м.д. актина - неполной цитоплазматической 2 изоформы X2 (как измерено с помощью ЖХ-МС).
208. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 198-207, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 1 м.д. галектина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).

209. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 198-208, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит менее примерно 1 м.д. пероксиредоксина-1 (как измерено с помощью ЖХ-МС).