

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202391149

(13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2023.08.21

(51) Int. Cl. A61K 39/12 (2006.01)  
A61P 27/02 (2006.01)  
C07K 16/24 (2006.01)  
A61K 39/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2021.10.28

(54) ВЕКТОРИЗОВАННЫЕ АНТИТЕЛА К TNF- $\alpha$  ПРИ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ ПАТОЛОГИЯХ

(31) 63/106,832

(32) 2020.10.28

(33) US

(86) PCT/US2021/057084

(87) WO 2022/094106 2022.05.05

(71) Заявитель:  
РИДЖЕНКСБИО ИНК. (US)

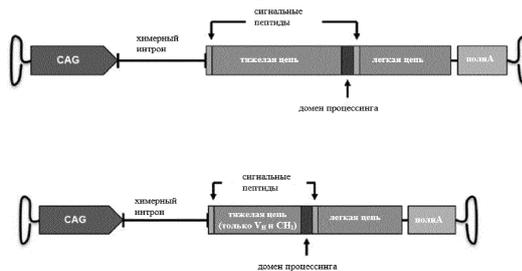
(72) Изобретатель:

Ван Сюй, Макдугалд Дэвин, Брудер  
Джозеф, Лю Е, Данос Оливье, Ли Вэй-  
Хуа, Цяо Чуньпин, Будзински Ева,  
Хиггинс Михайла, Ши Ми (US)

(74) Представитель:

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

(57) Описаны композиции и способы доставки полностью человеческого посттрансляционно модифицированного терапевтического моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые связываются с TNF- $\alpha$ , IL6 или IL6-R, субъекту-человеку для лечения офтальмологической патологии, в частности неинфекционного увеита. Нуклеотидная последовательность, кодирующая антитело, доставляется в векторе на основе гAAV, который нацелен на клетки ткани глаза для экспрессии трансгена.



A1

202391149

202391149

A1

# ВЕКТОРИЗОВАННЫЕ АНТИТЕЛА К TNF- $\alpha$ ПРИ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ ПАТОЛОГИЯХ

## Описание

### 1. ВВЕДЕНИЕ

[0001] Описаны композиции и способы доставки полностью человеческого посттрансляционно модифицированного (чПМ) терапевтического моноклонального антитела («мкАт»), которое связывается с фактором некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ), интерлейкином-6 (IL6) или рецептором интерлейкина-6 (IL6R), или чПМ антигенсвязывающего фрагмента терапевтического мкАт, которое связывается с TNF $\alpha$ , IL6, или IL6R, например, полностью гликозилированный (HuGly) Fab терапевтического мкАт человека, человеку с диагнозом неинфекционный увеит (НУ).

### 2. УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Было показано, что терапевтические мкАт эффективны при лечении ряда заболеваний и патологических состояний. Однако, поскольку эти агенты эффективны только в течение короткого периода времени, часто требуются повторные инъекции в течение длительного времени, что создает значительную терапевтическую нагрузку для пациентов.

[0003] Увеит включает группу гетерогенных заболеваний, характеризующихся воспалением увеального тракта. Увеит обычно можно классифицировать по этиологии воспаления как инфекционный или неинфекционный (аутоиммунные заболевания), который может быть связан или не связан с системным заболеванием. Кроме того, увеит может быть классифицирован по анатомическому принципу как передний, промежуточный, задний или панувеит, и они могут иметь острое, хроническое или рецидивирующее течение. Клиническая картина вариабельна, симптомы могут включать нечеткость зрения, светобоязнь, глазную боль и значительное нарушение зрения (Valenzuela et al., Front Pharmacol. 2020; 11: 655).

[0004] Неинфекционный увеит представляет собой серьезное, угрожающее зрению внутриглазное воспалительное заболевание, характеризующееся воспалением сосудистой оболочки (радужной оболочки, цилиарного тела и сосудистой оболочки). Считается, что неинфекционный увеит возникает в результате иммунно-опосредованного ответа на окулярные антигены и является основной причиной необратимой слепоты среди населения трудоспособного возраста в развитых странах. Целью лечения увеита является контроль воспаления, предотвращение рецидивов и сохранение зрения, а также минимизация

побочных эффектов лекарственных средств. В настоящее время стандарт лечения неинфекционных увеитов включает назначение кортикостероидов в качестве препаратов первой линии, однако в ряде случаев требуется более агрессивная терапия. К ним относятся синтетические иммунодепрессанты, такие как антимаетаболиты (метотрексат, микофенолата мофетил и азатиоприн), ингибиторы кальциневрина (циклоспорин, такролимус) и алкилирующие агенты (циклофосфамид, хлорамбуцил). У тех пациентов, которые становятся непереносимыми или невосприимчивыми к кортикостероидам и обычному иммуносупрессивному лечению, биологические агенты появились как эффективная терапия увеита у детей и взрослых, основанная на нацеливании на соответствующие иммунологические пути, участвующие в патогенезе заболевания. Применяемая в настоящее время иммуномодулирующая терапия включает ингибирование TNF $\alpha$ , достигаемое с помощью моноклональных антител, таких как инфликсимаб, адалимумаб, голимумаб и цертолизумаб-пегол, или с помощью слитого белка рецептора TNF, этанерцепта. В связи с этим агенты к TNF (инфликсимаб и адалимумаб) показали самые сильные результаты с точки зрения благоприятных исходов. Когда обычные иммуносупрессивные средства для лечения и/или виды терапии анти-TNF- $\alpha$  неэффективны, рекомендуются другие биологические агенты. Некоторые из новейших видов терапии направлены на блокирование действия интерлейкинов (например, терапия анти-IL6) (Ming et al., Drug Des Devel Ther. 2018; 12: 2005–2016).

[0005] Адалимумаб представляет собой полностью гуманизированное моноклональное антитело к TNF- $\alpha$ , которое вводится самостоятельно подкожно. Это наиболее часто используемый и изученный биологический препарат для лечения неинфекционного увеита у взрослых с момента его утверждения в 2016 году (Ming et al, Drug Des Devel Ther. 2018; 12: 2005–2016). Инфликсимаб (Remicade®) представляет собой химерное моноклональное антитело, используемое с 2001 года. Он имеет 25% мышинных и 75% гуманизированных доменов. Его использование одобрено FDA для лечения РА, псориатического артрита, ВЗК и анкилозирующего спондилита, но не для лечения неинфекционного увеита. Его вводят только внутривенно, обычно в сочетании с метотрексатом, чтобы предотвратить выработку антител к лекарственному средству. Инфликсимаб связан с множеством побочных эффектов при системном введении, таких как застойная сердечная недостаточность, реактивация латентного туберкулеза и повышенный риск инфекций, все из которых можно свести к минимуму при интравитреальном введении лекарственного средства. Голимумаб (Simponi®) представляет собой полностью гуманизированное моноклональное антитело, вводимое подкожно в дозе 50 мг каждые 4 недели. Существует мало доказательных данных, но его эффективность была описана у

пациентов с неинфекционным увеитом, рефрактерным к адалимумабу или инфликсимабу, и поэтому голимумаб, как правило, используется для лечения этой подгруппы пациентов, не ответивших на лечение.

[0006] Существует потребность в более эффективных средств для лечения, которые снижают нагрузку на пациентов, страдающих неинфекционным увеитом. Интравитреальные препараты стали многообещающим способом введения лекарственных средств у пациентов с увеитом, поскольку они доставляют большой объем лекарственного средства к целевым тканям, устраняя риск системной токсичности. Уменьшение или устранение необходимости в периодическом офтальмологическом введении уменьшит нагрузку на пациента и позволит улучшить терапию.

### **3. СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0007] Терапевтические антитела, доставляемые с помощью генной терапии, имеют несколько преимуществ по сравнению с введенными или инфузируемыми терапевтическими антителами, которые со временем рассеиваются, приводя к пиковым и минимальным уровням. Устойчивая экспрессия антитела-продукта трансгена, в отличие от многократных инъекций антитела, позволяет обеспечить более постоянный уровень антитела в месте действия и является менее рискованным и более удобным для пациентов, поскольку необходимо делать меньше инъекций. Более того, антитела, экспрессируемые трансгенами, посттрансляционно модифицируются иным образом, чем антитела, которые вводятся напрямую, из-за разницы в микроокружении во время и после трансляции. Без привязки к какой-либо конкретной теории, это приводит к антителам, которые имеют разные характеристики диффузии, биоактивности, распределения, аффинности, фармакокинетики и иммуногенности, так что антитела, доставленные к месту действия, являются «антителами с улучшенными характеристиками» по сравнению с непосредственно введенными антителами. Соответственно, в данном документе представлены композиции и способы генной терапии анти-TNF $\alpha$ , анти-IL6 или анти-IL6R, в частности генной терапии рекомбинантным AAV, предназначенные для нацеливания на глаз и создания депо трансгенов для экспрессии антител к TNF $\alpha$ , особенно адалимумаба, или его антигенсвязывающего фрагмента, или антитела к IL6 или к IL6R, которые приводят к терапевтическим или профилактическим уровням антител в сыворотке в течение 20 дней, 30 дней, 40 дней, 50 дней, 60 дней или 90 дней введения композиции гAAV.

[0008] Описаны композиции и способы для системной доставки чПМ мкАт к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R или чПМ антигенсвязывающего фрагмента терапевтического мкАт к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R (например, полностью человеческого гликозилированного Fab (HuGlyFab) терапевтического мкАт пациенту (субъекту-человеку), у которого

диагностирован неинфекционный увеит или другое патологическое состояние, для которого показано лечение терапевтическим мкАт к  $TNF\alpha$ , к  $IL6$  или к  $IL6R$ . Такие антигенсвязывающие фрагменты терапевтических мкАт включают Fab,  $F(ab')_2$  или scFv (одноцепочечный переменный фрагмент) (все вместе называемые в данном документе «антигенсвязывающим фрагментом»). Используемый в данном документе термин «чПМ Fab» может включать другие антигенсвязывающие фрагменты мкАт. В альтернативном варианте осуществления можно использовать полноразмерные мкАт. Доставка может быть успешно осуществлена с помощью генной терапии, например, путем введения вирусного вектора или другой конструкции для экспрессии ДНК, кодирующей терапевтическое мкАт к  $TNF\alpha$ , к  $IL6$  или к  $IL6R$  или его антигенсвязывающий фрагмент (или гипергликозилированное производное любого из них), пациенту, у которого диагностировано патологическое состояние, для которого показано лечение терапевтическим мкАт к  $TNF\alpha$ ,  $IL6$  или  $IL6R$ , для создания постоянного депо в глазу или, в альтернативных вариантах, в печени и/или мышце пациента, которое непрерывно поставляет чПМ мкАт или антигенсвязывающий фрагмент терапевтического мкАт, например, человеческий гликозилированный продукт трансгена или пептид, в одну или более тканей глаза, где мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент или пептид оказывают свой терапевтический или профилактический эффект.

[0009] Предложены векторы для генной терапии, в частности, векторы для генной терапии на основе гAAV, которые при введении человеку приводят к экспрессии антитела к  $TNF\alpha$ , к  $IL6$  или к  $IL6R$  с достижением максимальной или стационарной концентрации в сыворотке, например, через 20, 30, 40, 50, 60 или 90 дней после введения вектора, кодирующего антитело к  $TNF\alpha$ , к  $IL6$  или к  $IL6R$ . В определенных вариантах осуществления антитело связывается со своей мишенью, например, в анализе связывания антитела (например, анализе связывания на основе твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) или анализе кинетики в реальном времени на основе поверхностного плазмонного резонанса (ППР)), предпочтительно в пикомолярном или наномолярном диапазоне и/или проявляет биологическую активность в соответствующем анализе.

[0010] Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, включает нереплицирующиеся рекомбинантные аденоассоциированные вирусные векторы («гAAV»). В вариантах осуществления тип AAV имеет тропизм к клеткам сетчатки, например, AAV8 подтип AAV. Однако можно использовать другие вирусные векторы, включая, но не ограничиваясь ими, лентивирусные векторы; векторы на основе вируса осповакцины или невирусные экспрессирующие векторы, называемые конструкциями «голой ДНК». Экспрессия трансгена может контролироваться конститутивными или тканеспецифичными

элементами контроля экспрессии, в частности элементами, которые являются специфическими элементами контроля ткани глаза, печени и/или мышц, например, одним или более элементами из таблиц 1 и 1а.

[0011] В некоторых вариантах осуществления, чПМ мкАт или чПМ антигенсвязывающий фрагмент, кодируемые трансгеном, может включать, помимо прочего, полноразмерный или антигенсвязывающий фрагмент терапевтического антитела, которое связывается с  $TNF\alpha$ , в частности, адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб, или терапевтические антитела, которые связываются с IL6 или IL6R, включая сатрализумаб, сарилумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, эрилимзумаб, герилизумаб или тоцилизумаб, см., например, **Фиг. 1А и 1В**.

[0012] Конструкции для генной терапии для терапевтических антител сконструированы таким образом, что экспрессируются как тяжелая, так и легкая цепи. Кодированные последовательности для тяжелой и легкой цепей могут быть сконструированы в единой конструкции, в которой тяжелая и легкая цепи разделены расщепляемым линкером или IRES, так что экспрессируются отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепей. В конкретных вариантах осуществления линкер представляет собой линкер фурин-Т2А (SEQ ID NO:143 или 144). В определенных вариантах осуществления кодирующие последовательности кодируют Fab или  $F(ab')_2$  или scFv. В определенных вариантах осуществления экспрессируются полноразмерные тяжелая и легкая цепи антитела. В других вариантах осуществления конструкции экспрессируют scFv, в котором переменные домены тяжелой и легкой цепей связаны через гибкий нерасщепляемый линкер. В определенных вариантах осуществления конструкция экспрессируется от N-конца,  $NH_2$ - $V_L$ -линкер- $V_H$ -COOH или  $NH_2$ - $V_H$ -линкер- $V_L$ -COOH.

[0013] Кроме того, антитела, экспрессируемые трансгенами *in vivo*, вряд ли будут содержать продукты деградации, связанные с антителами, полученными с помощью рекомбинантных технологий, таких как агрегация белков и окисление белков. Агрегация является проблемой, связанной с получением и хранением белка из-за высокой концентрации белка, поверхностного взаимодействия с производственным оборудованием и контейнерами и очистки с помощью определенных буферных систем. Эти условия, которые способствуют агрегации, отсутствуют в экспрессии трансгена в генной терапии. Окисление, такое как окисление метионина, триптофана и гистидина, также связано с производством и хранением белка и вызвано стрессовыми условиями культивирования клеток, контактом металла и воздуха, а также примесями в буферах и эксципиентах. Белки, экспрессируемые трансгенами *in vivo*, также могут окисляться в стрессовых условиях. Однако люди и многие другие организмы имеют систему антиоксидантной защиты, которая

не только снижает окислительный стресс, но иногда также восстанавливает и/или обращает вспять процесс окисления. Таким образом, белки, продуцируемые *in vivo*, вряд ли находятся в окисленной форме. И агрегация, и окисление могут влиять на активность, фармакокинетику (клиренс) и иммуногенность.

[0014] Продукция чПМ мкАт или чПМ Fab в клетках ткани глаза человека-субъекта должна приводить к созданию молекулы «с улучшенными характеристиками» для лечения заболевания, осуществляемого с помощью генной терапии, например, путем введения вирусного вектора или другой конструкции экспрессии ДНК, кодирующей полноразмерное чПМ мкАт или чПМ Fab терапевтического мкАт, пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностировано заболевание, для которого показано это мкАт, для создания постоянного депо у субъекта, которое непрерывно обеспечивает человеческий гликозилированный сульфатированный продукт трансгена, продуцируемый трансдуцированными клетками субъекта. Конструкция кДНК для чПМ мкАт или чПМ Fab должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками человека.

[0015] В качестве альтернативы или дополнительного лечения к генной терапии полноразмерные чПМ мкАт или чПМ Fab можно продуцировать в линиях клеток человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК, а гликопротеин можно вводить пациентам.

[0016] Виды комбинированной терапии, включающие системную доставку полноразмерных чПМ мкАт к  $TNF\alpha$ , к IL6 или к IL6R, или чПМ Fab к  $TNF\alpha$ , к IL6 или к IL6R пациенту, сопровождаемому введением других доступных средств для лечения, охватываются способами, представленными в данном документе. Дополнительные средства для лечения можно вводить до, одновременно или после генной терапии. Такие дополнительные средства для лечения могут включать, но не ограничиваются ими, совместную терапию с терапевтическим мкАт.

[0017] Также представлены способы производства вирусных векторов, в частности вирусных векторов на основе AAV. В конкретных вариантах осуществления представлены способы получения рекомбинантных AAV, включающие культивирование клетки-хозяина, содержащей искусственный геном, содержащий цис-кассету экспрессии, фланкированную ITR AAV, при этом цис-кассета экспрессии содержит трансген, кодирующий терапевтическое антитело, функционально связанный с элементами контроля экспрессии, которые будут контролировать экспрессию трансгена в клетках человека; транс-кассету экспрессии без ITR AAV, при этом транс-кассета экспрессии кодирует гер и капсидный белок AAV, функционально связанный с элементами контроля экспрессии, которые управляют экспрессией гер и капсидных белков AAV в клетке-хозяине в культуре и

обеспечивают белки гер и сар в транс-расположении; достаточное функционирование хелпера аденовируса для обеспечения репликации и упаковки искусственного генома капсидными белками AAV; и выделение рекомбинантного AAV, инкапсулирующего искусственный геном, из культуры клеток.

[0018] Авторы изобретения обнаружили, что внутривенное введение вектора на основе AAV8, содержащего оптимизированную кассету экспрессии, содержащую специфичный для печени промотор и кодон-оптимизированный и обедненный в отношении CpG трансген с модифицированным сигналом процессинга фурина-T2A, приводит к дозозависимым и устойчивым концентрациям антител в сыворотке у отличных от человека приматов. Соответственно, предложены композиции, содержащие векторы на основе gAAV, которые содержат оптимизированную кассету экспрессии, содержащую специфичный для печени промотор и кодон-оптимизированный и обедненный в отношении CpG трансген с модифицированным сигналом процессинга фурина-T2A, которая экспрессирует трансген, например, тяжелую и легкую цепи терапевтического антитела к TNF $\alpha$  (включая адалимумаб) к IL6 или к IL6R. Также представлены способы введения и производства.

### **3.1 ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ**

#### **Химические композиции**

1. Фармацевтическая композиция для лечения неинфекционного увеита у субъекта-человека, нуждающегося в этом, содержащая вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV), имеющий:

- (a) вирусный капсид, имеющий тропизм к клеткам ткани глаза; и
- (b) искусственный геном, содержащий кассету экспрессии, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, при этом кассета экспрессии содержит трансген, кодирующий тяжелую цепь и легкую цепь по существу полноразмерного или полноразмерного мкАт к TNF $\alpha$ , мкАТ к IL6 или мкАт к IL6R, или их антигенсвязывающего фрагмента, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые способствуют экспрессии трансгена в клетках ткани глаза человека;

при этом указанный вектор AAV составлен для субретинального, интравитреального, интраназального, интракамерального, супрахориоидального или системного введения указанному субъекту-человеку.

2. Фармацевтическая композиция по пункту 1, отличающаяся тем, что вирусный капсид имеет по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью серотипа 1 (AAV1), серотипа 2 (AAV2), серотипа AAV2.7m8 (AAV2.7m8), серотипа 3 (AAV3), серотипа 3B (AAV3B), серотипа 4 (AAV4), серотипа 5 (AAV5), серотипа 6

- (AAV6), серотипа 7 (AAV7), серотипа 8 (AAV8), серотипа rh8 (AAVrh8), серотипа 9 (AAV9), серотипа 9e (AAV9e), серотипа rh10 (AAVrh10), серотипа rh20 (AAVrh20), серотипа rh39 (AAVrh39), серотипа hu.37 (AAVhu.37), серотипа rh73 (AAVrh73), серотипа rh74 (AAVrh74), серотипа hu51 (AAV.hu51), серотипа hu21 (AAV.hu21), серотипа hu12 (AAV.hu12), или серотипа hu26 (AAV.hu26) AAV.
3. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 1 или 2, отличающаяся тем, что капсид AAV представляет собой AAV8, AAV3B, AAV2.7m8, или AAVrh73.
  4. Фармацевтическая композиция по пунктам 1-3, отличающаяся тем, что клетка ткани глаза представляет собой клетку роговицы, клетку радужной оболочки, клетку цилиарного тела, клетку шлеммова канала, клетку трабекулярной сети, клетку сетчатки, клетку ткани ПЭС-хориоидеи или клетку зрительного нерва.
  5. Фармацевтическая композиция по пунктам 1-4, отличающаяся тем, что регуляторная последовательность включает регуляторную последовательность из таблицы 1 или таблицы 1a.
  6. Фармацевтическая композиция по пункту 5, отличающаяся тем, что регуляторная последовательность представляет собой промотор CAG (SEQ ID NO: 74), промотор родопсинкиназы человека (GRK1) (SEQ ID NO: 77 или 217), промотор аррестина колбочек мыши (CAR) (SEQ ID NO:214-216), промотор красного опсина человека (RedO) (SEQ ID NO:212), промотор CB (SEQ ID NO:273 или 274) или тандемный промотор Best1/GRK (SEQ ID NO:275).
  7. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 1-6, отличающаяся тем, что трансген содержит линкер фурин/2A между нуклеотидными последовательностями, кодирующими тяжелую и легкую цепи указанного мкАт.
  8. Фармацевтическая композиция по пункту 7, отличающаяся тем, что указанный линкер фурин 2A представляет собой линкер фурин/T2A, имеющий аминокислотную последовательность RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:143 или 144).
  9. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках ткани глаза человека.
  10. Фармацевтическая композиция по пункту 9, отличающаяся тем, что указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 85) или сигнальную последовательность из таблицы 2.
  11. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 1-10, отличающаяся тем, что

трансен имеет структуру: сигнальная последовательность – тяжелая цепь – сайт фурина – сайт 2A – сигнальная последовательность – легкая цепь – поли(A).

12. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-11, отличающаяся тем, что антитело к TNF $\alpha$  представляет собой адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб или их антигенсвязывающий фрагмент.
13. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 1-12, отличающаяся тем, что полноразмерное мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6.
14. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 1-13, отличающаяся тем, что трансен содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 26, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 27, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 28, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 29, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 30, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 31, кодирующую легкую цепь.
15. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-11, отличающаяся тем, что антитело к IL6 или к IL6R представляет собой сатрализумаб, сарилумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилизумаб или тоцилизумаб, или их антигенсвязывающий фрагмент.
16. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-11 или 15, отличающаяся тем, что полноразмерное мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 7 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 185 и легкую цепь с

аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12; содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 16; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 18; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22.

17. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1, 11 или 15-16, отличающаяся тем, что трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 32, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 33, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 34, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 35, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 36, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 37, кодирующую легкую цепь; при этом трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 38, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 39, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 40, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 41, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 42, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 43, кодирующую легкую цепь; при этом трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 44, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 45, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 183, кодирующую тяжелую цепь,

- и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:184, кодирующую легкую цепь.
18. Фармацевтическая композиция по пунктам 1-17, отличающаяся тем, что антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, F(ab')<sub>2</sub>, или scFv.
  19. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 1-18, отличающаяся тем, что мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или отличающаяся тем, что полипептид Fc мкАт гликозилирован или агликозилирован.
  20. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-19, отличающаяся тем, что искусственный геном является самокомплементарным.
  21. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-20, отличающаяся тем, что искусственный геном представляет собой конструкцию EF1ac.Vh4i.Adalimumab.Fab scAAV, mU1a.Vh4i.Adalimumab.Fab scAAV, CAG.Adalimumab.IgG, CAG.Adalimumab.Fab, GRK1.Vh4i.Adalimumab.IgG, CB.VH4i.adalimumab.IgG, CBlong.VH4.adalimumab.IgG или Best1.GRK.VH4.adalimumab.IgG.
  22. Композиция, содержащая вектор аденоассоциированного вируса (AAV), имеющий:
    - a. вирусный капсид AAV, который необязательно имеет по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью серотипа 1 (AAV1), серотипа 2 (AAV2), серотипа 3 (AAV3), серотипа 3В (AAV3В), серотипа 4 (AAV4), серотипа 5 (AAV5), серотипа 6 (AAV6), серотипа 7 (AAV7), серотипа 8 (AAV8), серотипа rh8 (AAVrh8), серотипа 9 (AAV9), серотипа 9e (AAV9e), серотипа rh10 (AAVrh10), серотипа rh20 (AAVrh20), серотипа rh39 (AAVrh39), серотипа hu.37 (AAVhu.37), серотипа rh73 (AAVrh73), серотипа rh74 (AAVrh74), серотипа hu51 (AAV.hu51), серотипа hu21 (AAV.hu21), серотипа hu12 (AAV.hu12) или серотипа hu26 (AAV.hu26) AAV; и
    - b. искусственный геном, содержащий кассету экспрессии, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, при этом кассета экспрессии содержит трансген, кодирующий тяжелую и легкую цепи по существу полноразмерного или полноразмерного мкАт к TNF $\alpha$ , антитела к IL6 или антитела к IL6R, или их антигенсвязывающего фрагмента, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые способствуют экспрессии трансгена в клетках ткани глаза человека;
    - c. при этом трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного мкАт, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию указанного мкАт в клетках ткани глаза.
  23. Композиция по пункту 22, отличающаяся тем, что клетка ткани глаза представляет

- собой клетку роговицы, клетку радужной оболочки, клетку цилиарного тела, клетку шлеммова канала, клетку трабекулярной сети, клетку сетчатки, клетку ткани ПЭС-хориоидеи или клетку зрительного нерва.
24. Композиция по пунктам 22 или 23, отличающаяся тем, что капсид AAV представляет собой AAV2.7m8, AAV8, AAV3B или AAVrh73.
25. Композиция по пп. 22-24, отличающаяся тем, что антитело к TNF $\alpha$  представляет собой адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб или их антигенсвязывающий фрагмент.
26. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 22-25, отличающаяся тем, что полноразмерное мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6.
27. Фармацевтическая композиция по пунктам 22-26, отличающаяся тем, что трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 26, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 27, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 28, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 29, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 30, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 31, кодирующую легкую цепь.
28. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 22-27, отличающаяся тем, что антитело к IL6 или к IL6R представляет собой сатрализумаб, сарилумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилизумаб или тоцилизумаб, или их антигенсвязывающий фрагмент.
29. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 22-24 или 27, отличающаяся тем, что полноразмерное мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 7 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9 и необязательно полипептид Fc

с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:185 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12; содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 16; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 18; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22.

30. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 22-24 или 28-29, отличающаяся тем, что трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 32, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 33, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 34, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 35, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 36, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 37, кодирующую легкую цепь; при этом трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 38, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 39, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 40, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 41, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 42, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 43, кодирующую легкую цепь; при этом трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 44, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 45, кодирующую легкую цепь;

- или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:183, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:184, кодирующую легкую цепь.
31. Композиция по любому из пп. 22-30, отличающаяся тем, что трансген содержит линкер фурин/2A между нуклеотидными последовательностями, кодирующими тяжелую и легкую цепи указанного мкАт.
  32. Композиция по любому из пунктов 22-31, отличающаяся тем, что нуклеиновая кислота, кодирующая линкер фурин 2A, включена в кассету экспрессии между нуклеотидными последовательностями, кодирующими последовательности тяжелой и легкой цепей, в результате чего образуется конструкция со структурой: сигнальная последовательность – тяжелая цепь – сайт фурина – сайт 2A – сигнальная последовательность – легкая цепь – поли(A).
  33. Композиция по пунктам 22-32, отличающаяся тем, что указанный линкер фурин 2A представляет собой линкер фурин/T2A, имеющий аминокислотную последовательность RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:143 или 144).
  34. Композиция по любому из пунктов 22–33, отличающаяся тем, что указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIASLALVTNS (SEQ ID NO: 85) или сигнальную последовательность из таблицы 2.
  35. Композиция по любому из пп. 22-34, отличающаяся тем, что искусственный геном является самокомплементарным.
  36. Композиция по любому из пунктов 22-27 или 31-35, отличающаяся тем, что искусственный геном представляет собой конструкцию EF1ac.Vh4i.Adalimumab.Fab scAAV, mU1a.Vh4i.Adalimumab.Fab scAAV, CAG.Adalimumab.IgG, CAG.Adalimumab.Fab, GRK1.Vh4i.Adalimumab.IgG, CB.VH4i.adalimumab.IgG, CBlong.VH4i.adalimumab.IgG. или Best1/GRK1.VH4i.adalimumab.IgG.

### **Способ лечения**

37. Способ лечения неинфекционного увеита у субъекта-человека, нуждающегося в этом, включающий субретинальное, интравитреальное, интраназальное, интракамеральное, супрахориоидальное или системное введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции, содержащей рекомбинантный AAV, содержащий трансген, кодирующий мкАт к TNF $\alpha$ , мкАт к IL6, или мкАт к IL6R, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ткани глаза.
38. Способ лечения неинфекционного увеита у субъекта-человека, нуждающегося в этом,

- включающий: субретинальное, интравитреальное, интраназальное, интракамеральное, супрахориоидальное или системное введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества рекомбинантного нуклеотидного вектора экспрессии, содержащего трансген, кодирующий мкАт к TNF $\alpha$ , мкАт к IL6 или мкАт к IL6R, или их антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ткани глаза человека, так что образуется депо, которое высвобождает человеческую посттрансляционно модифицированную (чПМ) форму мкАт к TNF $\alpha$ , мкАт к IL6 или мкАт к IL6R, или их антигенсвязывающего фрагмента.
39. Способ по пунктам 37 или 38, отличающийся тем, что мкАт к TNF $\alpha$  представляет собой адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб.
40. Способ по пунктам 37-39, отличающийся тем, что полноразмерное мкАт к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6.
41. Способ по пунктам 37-40, отличающийся тем, что трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 26, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 27, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 28, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 29, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 30, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 31, кодирующую легкую цепь.
42. Способ по любому из пунктов 37-38, отличающийся тем, что антитело к IL6 или к IL6R представляет собой сатрализумаб, сарилумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилизумаб или тоцилизумаб, или их антигенсвязывающий фрагмент.
43. Способ по любому из пп. 37-38 или 42, отличающийся тем, что полноразмерное мкАт

или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 7 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 185 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12; содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 16; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 18; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22.

44. Способ по любому из пп. 37–38 или 42–43, отличающийся тем, что трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 32, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 33, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 34, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 35, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 36, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 37, кодирующую легкую цепь; при этом трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 38, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 39, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 40, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 41,

- кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 42, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 43, кодирующую легкую цепь; при этом трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 44, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 45, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:183, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:184, кодирующую легкую цепь.
45. Способ по пунктам 37-44, отличающийся тем, что клетка ткани глаза представляет собой клетку роговицы, клетку радужной оболочки, клетку цилиарного тела, клетку шлеммова канала, клетку трабекулярной сети, клетку сетчатки, клетку ткани ПЭС-хориоидеи или клетку зрительного нерва.
46. Способ по пунктам 37-44, отличающаяся тем, что вирусный капсид имеет по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью серотипа 1 (AAV1), серотипа 2 (AAV2), серотипа AAV2.7m8 (AAV2.7m8), серотипа 3 (AAV3), серотипа 3В (AAV3В), серотипа 4 (AAV4), серотипа 5 (AAV5), серотипа 6 (AAV6), серотипа 7 (AAV7), серотипа 8 (AAV8), серотипа rh8 (AAVrh8), серотипа 9 (AAV9), серотипа 9e (AAV9e), серотипа rh10 (AAVrh10), серотипа rh20 (AAVrh20), серотипа rh39 (AAVrh39), серотипа hu.37 (AAVhu.37), серотипа rh73 (AAVrh73), серотипа rh74 (AAVrh74), серотипа hu51 (AAV.hu51), серотипа hu21 (AAV.hu21), серотипа hu12 (AAV.hu12), или серотипа hu26 (AAV.hu26) AAV;
47. Способ по любому из пунктов 37-46, отличающийся тем, что капсид AAV представляет собой AAV2.7m8, AAV8, AAV3В или AAVrh73.
48. Способ по любому из пунктов 37-46, отличающийся тем, что регуляторная последовательность включает регуляторную последовательность из таблицы 1.
49. Способ по пункту 48, отличающийся тем, что регуляторная последовательность представляет собой промотор родопсинкиназы человека (GRK1) (SEQ ID NO:77 или 217), промотор аррестина колбочек мыши (CAR) (SEQ ID NO:214-216), промотор красного опсина человека (RedO) (SEQ ID NO:212).
50. Способ по любому из пп. 37-49, отличающийся тем, что трансген содержит линкер фурин/2А между нуклеотидными последовательностями, кодирующими тяжелую и легкую цепи указанного мкАт.
51. Способ по п. 50, отличающийся тем, что указанный линкер фурин 2А представляет собой линкер фурин/Т2А, имеющий аминокислотную последовательность RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:143 или 144).
52. Способ по любому из пп. 37-51, отличающийся тем, что трансген кодирует

- сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках ткани глаза человека.
53. Способ по пункту 52, отличающийся тем, что указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85) или сигнальную последовательность из таблицы 2.
  54. Способ по любому из пп. 37–53, отличающийся тем, что трансген имеет структуру: Сигнальная последовательность – тяжелая цепь – сайт фурина – сайт 2A – сигнальная последовательность – легкая цепь – поли(A).
  55. Способ по любому из пп. 37-54, отличающийся тем, что мкАт представляет собой гипергликозилированный мутант или при этом полипептид Fc мкАт гликозилирован или агликозилирован.
  56. Способ по любому из пп. 37-55, отличающийся тем, что мкАт содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.
  57. Способ по любому из пп. 37-56, отличающийся тем, что мкАт является гликозилированным, но не содержит детектируемый NeuGc и/или  $\alpha$ -Gal.
  58. Способ по любому из пунктов 37-57, отличающийся тем, что мкАт имеет сульфатирование тирозина.
  59. Способ по любому из пп. 37-58, отличающийся тем, что продуцирование указанной чПМ формы указанного мкАт или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдукции клеток ткани глаза человека в культуре указанным рекомбинантным нуклеотидным вектором экспрессии и экспрессии указанного мкАт или его антигенсвязывающего фрагмента.
  60. Способ по пунктам 37 или 59, отличающийся тем, что терапевтически эффективное количество определено как достаточное для поддержания концентрации по меньшей мере 10 нг/мл в водянистой влаге, стекловидном теле, ПЭС, сетчатке и/или переднем сегменте/камере.
  61. Способ по пунктам 37 или 60, отличающийся тем, что терапевтически эффективное количество определяется как достаточное для улучшения остроты зрения с максимальной коррекцией (BCVA) на  $\geq 2$  строки ETDRS или увеличения logMAR, снижения воспалительной активности передней и задней камеры в соответствии с классификацией SUN и/или снижения степени помутнения стекловидного тела.
  62. Способ по любому из пп. 37-61, отличающийся тем, что гAAV является самокомплементарным.
  63. Способ по любому из пп. 37–62, отличающийся тем, что трансген в составе

конструкции EF1ac.Vh4i.Adalimumab.Fab scAAV, mU1a.Vh4i.Adalimumab.Fab scAAV, CAG.Adalimumab.IgG, CAG.Adalimumab.Fab, GRK1.Vh4i.Adalimumab.IgG, CB.VH4i.adalimumab.IgG, CBlong.VH4i.adalimumab.IgG или Best1/GRK1.VH4i.adalimumab.IgG.

### **Способы производства**

64. Способ получения рекомбинантных AAV, включающий:

(a) культивирование клетки-хозяина, содержащей:

(i) искусственный геном, содержащий *цис*-кассету экспрессии, фланкированную ITR AAV, при этом *цис*-кассета экспрессии содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное мкАт к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R, или их антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые способствуют экспрессии трансгена в клетках ткани глаза человека;

(ii) *транс*-кассету экспрессии, лишенную ITR AAV, при этом транс-кассета экспрессии кодирует гер AAV и капсидный белок AAV, функционально связанную с элементами контроля экспрессии, которые управляют экспрессией гер AAV и капсидного белка AAV в клетке-хозяине в культуре и обеспечивает гер AAV и капсидный белок AAV в *транс*-расположении; при этом капсид имеет тропизм к клеткам тканей глаза;

(iii) достаточное количество хелперных функций аденовируса для обеспечения репликации и упаковки искусственного генома капсидным белком AAV; и

(b) выделение рекомбинантного AAV, инкапсулирующего искусственный геном, из культуры клеток.

65. Способ по п. 64, отличающийся тем, что трансген кодирует по существу полноразмерное или полноразмерное мкАт или антигенсвязывающий фрагмент, которые содержат переменные домены тяжелой и легкой цепи из адалимумаба, инфликсимаба, голимумаба, сатрализумаба, сарилумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилизумаба или тоцилизумаба, при этом капсидный белок AAV представляет собой капсидный белок AAV2.7m8, AAV8, AAV3B или AAVrh73.

66. Способ по пунктам 64 или 65, отличающийся тем, что клетка ткани глаза представляет собой клетку роговицы, клетку радужной оболочки, клетку цилиарного тела, клетку шлеммова канала, клетку трабекулярной сети, клетку сетчатки, клетку ткани

ПЭС-хориоидеи или клетку зрительного нерва.

67. Клетка-хозяин, содержащая:

- a. искусственный геном, содержащий *цис*-кассету экспрессии, фланкированную ITR AAV, при этом *цис*-кассета экспрессии содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное мкАт к TNF $\alpha$ , мкАт к IL6 или мкАт к IL6R, или их антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые способствуют экспрессии трансгена в клетках ткани глаза человека;
- b. *транс*-кассету экспрессии, лишенную ITR AAV, при этом транс-кассета экспрессии кодирует гер AAV и капсидный белок AAV, функционально связанную с элементами контроля экспрессии, которые управляют экспрессией гер AAV и капсидного белка AAV в клетке-хозяине в культуре и обеспечивает гер AAV и капсидный белок AAV в *транс*-расположении; при этом капсид имеет тропизм к клеткам тканей глаза;
- c. достаточное количество хелперных функций аденовируса для обеспечения репликации и упаковки искусственного генома капсидным белком AAV.

68. Клетка-хозяин по п. 67, отличающаяся тем, что трансген кодирует по существу полноразмерное или полноразмерное мкАт или антигенсвязывающий фрагмент, которые содержат переменные домены тяжелой и легкой цепи из адалимумаба, инфликсимаба, голимумаба, сатрализумаба, сарилумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилизумаба или тоцилизумаба.

69. Клетка-хозяин по пунктам 67 или 68, отличающаяся тем, что капсидный белок AAV представляет собой капсидный белок AAV2.7m8, AAV8, AAV3B или AAVrh73.

70. Клетка-хозяин по пунктам 67-69, отличающаяся тем, что клетка ткани глаза представляет собой клетку роговицы, клетку радужной оболочки, клетку цилиарного тела, клетку шлеммова канала, клетку трабекулярной сети, клетку сетчатки, клетку ткани ПЭС-хориоидеи или клетку зрительного нерва.

#### 4. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0019] **Фиг. 1А-1В.** Схема геномных конструкций вектора гAAV, содержащих кассету экспрессии, кодирующую тяжелую и легкую цепи терапевтического мкАт, разделенные линкером фурин-2А, функционально связанную с промотором СAG, контролируемую элементами экспрессии, которые фланкированы ITR AAV. Трансген может содержать нуклеотидные последовательности, кодирующие полноразмерные тяжелые и легкие цепи с областями Fc (**A**) или тяжелые и легкие цепи части Fab (**B**).

[0020] **Фиг. 2А-2С.** Аминокислотная последовательность конструкции трансгена области Fab адалимумаба (А), инфликсимаба (В) и голимумаба (С), терапевтических антител к фактору некроза опухоли (TNF $\alpha$ ). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты (N) гликозилирования по аспарагину, неконсенсусные сайты (N) гликозилирования по аспарагину; и сайты O-сульфатирования по тирозину (курсив) указаны в легенде. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирная область выделена серым цветом.

[0021] **Фиг. 3А-3Н.** Аминокислотная последовательность трансгенной конструкции для области Fab сатрализумаба (А), сарилумаба (В), силтуксимаба (С), клазакизумаба (D), сирукумаба (Е), олокизумаба (F), герилизумаба (G) или тоцилизумаба (H). Сайты гликозилирования выделены жирным шрифтом. Сайты гликозилирования по глутамину; сайты (N) гликозилирования по аспарагину, неконсенсусные сайты (N) гликозилирования по аспарагину; и сайты O-сульфатирования по тирозину (курсив) указаны в легенде. Определяющие комплементарность области (CDR) подчеркнуты. Шарнирная область выделена серым цветом.

[0022] **Фиг. 4.** Множественное выравнивание последовательностей Clustal различных капсидов с тропизмом к ткани глаза. Аминокислотные замены (выделены жирным шрифтом в нижних рядах) могут быть произведены в капсидах AAV8 путем «набора» аминокислотных остатков из соответствующего положения других выровненных капсидов AAV. Последовательность показана серым цветом = гипервариабельные области. Аминокислотным последовательностям капсидов AAV присвоены идентификационные номера последовательностей, как показано на **Фиг. 4**.

[0023] **Фиг. 5** Гликаны, которые могут быть присоединены к областям HuGlyFab полноразмерных мкАт или к антигенсвязывающим доменам. (Адаптированы из Bondt et al., 2014, Mol & Cell Proteomics 13.1: 3029-3039).

[0024] **Фиг. 6.** Множественное выравнивание последовательностей Clustal константных областей тяжелой цепи (CH2 и CH3) IgG1 (SEQ ID NO: 61), IgG2 (SEQ ID NO: 62) и IgG4 (SEQ ID NO: 63). Шарнирная область от остатка 219 до остатка 230 тяжелой цепи показана курсивом. Нумерация аминокислот приведена в формате EU.

[0025] **Фиг. 7.** Уровни экспрессии векторизованного адалимумаба (AAV8.CAG.adalimumab.IgG) в тканях глаза (сетчатка, пигментный эпителий сетчатки (ПЭС) и передний сегмент) при трех различных дозах (1e7, 1e8 и 1e9 гв/глаз). В качестве контрольного вектора использовали PBS, а в качестве контрольного вектора - AAV.GFP. Уровни экспрессии адалимумаба (нг) показаны по отношению к общему количеству белка

(г).

[0026] **Фиг 8.** Уровни экспрессии векторизованного адалимумаба (AAV8.CAG.adalimumab.IgG) в тканях глаза (сетчатка, пигментный эпителий сетчатки (ПЭС) и передний сегмент) при трех различных дозах ( $1e7$ ,  $1e8$  и  $1e9$  гв/глаз). В качестве контрольного вектора использовали PBS, а в качестве контрольного вектора - AAV.GFP. Уровни экспрессии адалимумаба (нг) представлены в концентрации на мл.

[0027] **На Фиг. 9А и 9В** показано выравнивание различных последовательностей антител. А) Последовательности тяжелых цепей антител. Сверху вниз: аминокислоты 1-229 SEQ ID NO:23, аминокислоты 1-228 SEQ ID NO:3, аминокислоты 1-237 SEQ ID NO:5, аминокислоты 1-224 SEQ ID NO: 7, аминокислоты 1-224 SEQ ID NO:9, аминокислоты 1-227 SEQ ID NO:11, аминокислоты 1-228 SEQ ID NO:13, аминокислоты 1-227 SEQ ID NO:15, аминокислоты 1-224 SEQ ID NO:17, аминокислоты 1-230 SEQ ID NO:19, аминокислоты 1-228 SEQ ID NO:21. В) Последовательности легких цепей антител. Сверху вниз: аминокислоты 1-229 SEQ ID NO:24, аминокислоты 1-228 SEQ ID NO:4, аминокислоты 1-237 SEQ ID NO:6, аминокислоты 1-224 SEQ ID NO: 8, аминокислоты 1-224 SEQ ID NO:10, аминокислоты 1-227 SEQ ID NO:12, аминокислоты 1-228 SEQ ID NO:14, аминокислоты 1-227 SEQ ID NO:16, аминокислоты 1-224 SEQ ID NO:18, аминокислоты 1-230 SEQ ID NO:20, аминокислоты 1-228 SEQ ID NO:22.

[0028] **На Фиг. 10А и 10В** показано связывание с различными концентрациями TNF $\alpha$  мыши или человека в сравнении с конкурентным анализом на основе ИФА как для экспрессированного вектором адалимумаба, экстрагированного из глаза мыши (после субретинального введения) (10А), так и для коммерческого адалимумаба (10В).

[0029] **На Фиг. 11А и В** показаны результаты исследований доза-эффект. **На А** представлены результаты исследования доза-эффект АЗКЦ с использованием клеток CHO/DG44-tm TNF $\alpha$  в качестве целевых клеток с соотношением Е/Т 25:1. **В.** Клетки CHO/DG44-tm TNF $\alpha$  использовали в качестве целевых клеток с 5% комплементом сыворотки здорового человека (NHSC) в исследовании доза-эффект КЗЦ. Доза-эффект и величины наилучшего согласия положительного контроля (адалимумаб), образцов (AAV-адалимумаб) и отрицательного контроля (человеческий IgG1) показаны на **А** и **В**.

[0030] **На Фиг. 12** показаны общие баллы в зависимости от времени для 3 групп (крыс), которым вводили различные дозы hTNF $\alpha$  (50 нг, 100 нг и 170 нг), а также для контрольной группы (носитель) и группы, не получавшей лечение.

[0031] **На Фиг. 13** показаны уровни адалимумаба (измеренные с помощью ИФА с лунками, покрытыми рекомбинантным TNF человека) в глазах крыс линии Льюис через 21 день после субретинальной инъекции AAV8.CAG.Adalimumab при  $1,0E+9$

**ГК/глаз и  $3,0E+8$  ГК/глаз —  $86,0$  нг/глаз и  $17,1$  нг/глаз адалимумаба/глаз, соответственно.**

[0032] На **Фиг. 14** показаны уровни адалимумаба в тканях глаза ПЭС, сетчатки и переднего сегмента у мышей после субретинального введения AAV8.CAG.adalumumab или AAV8.GRK1.adalimumab в дозах  $1,0E08$  или  $1,0E09$  и контроля носителем через 4-5 недель после введения.

## **5. ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0033] Описаны композиции и способы системной доставки полностью человеческого посттрансляционно модифицированного (чПМ) терапевтического моноклонального антитела (мкАт) или антигенсвязывающего фрагмента чПМ терапевтического мкАт к  $TNF\alpha$ , к  $IL6$  или к  $IL6R$  (например, полностью человеческий гликозилированный Fab (HuGlyFab) терапевтического мкАт) пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностирован неинфекционный увеит или другая патология, для которых показано лечение терапевтическим мкАт. Доставка может быть успешно осуществлена с помощью генной терапии, например, путем введения вирусного вектора или другой конструкции экспрессии ДНК, кодирующей терапевтическое мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент (или гипергликозилированное производное любого из них) пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностировано патологическое состояние, для которого показано лечение терапевтическим мкАт, для создания постоянного депо в ткани или органе пациента, особенно в глазу, которое непрерывно поставляет чПМ мкАт или антигенсвязывающий фрагмент терапевтического мкАт, например, человеческий гликозилированный продукт трансгена в ткани глаза субъекта, при этом мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент проявляют свой терапевтический эффект.

[0034] В некоторых вариантах осуществления, чПМ мкАт или чПМ антигенсвязывающий фрагмент, кодируемые трансгеном, но не ограничиваясь этим, представляет собой полноразмерный или антигенсвязывающий фрагмент чПМ мкАт или чПМ, который связывает  $TNF\alpha$ , в частности, адалимумаб (см. **Фиг. 2A** для последовательностей тяжелой и легкой цепей части Fab адалимумаба),  $IL6$  или  $IL6R$ .

[0035] Композиции и способы, предложенные в данном документе, системно доставляют антитело к  $TNF\alpha$ , в частности, адалимумаб, антитело к  $IL6$  или к  $IL6R$ , из депо вирусных геномов, например, в глаз или печень/мышцу субъекта, на уровне либо в ткани глаза (например, в стекловидном теле или водянистой влаге, либо в сыворотке, которая терапевтически или профилактически эффективна для лечения или облегчения симптомов неинфекционного увеита или других патологий, которые можно лечить с помощью антитела

к TNF $\alpha$ , к IL6, или к IL6R. В настоящем документе идентифицированы вирусные векторы для доставки трансгенов, кодирующих терапевтические антитела к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R, в клетки человека, включая, в вариантах осуществления, одну или более клеток ткани глаза и регуляторные элементы, функционально связанных с нуклеотидной последовательностью, кодирующей тяжелую и легкую цепи антитела к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R, которые способствуют экспрессии антитела в клетках, в вариантах осуществления, в клетках ткани глаза. Такие регуляторные элементы, в том числе регуляторные элементы, специфичные для ткани глаза, представлены в **таблице 1** и **таблице 1a** в данном документе. Соответственно, такие вирусные векторы могут быть доставлены субъекту-человеку в подходящих дозах, таких, чтобы по меньшей мере через 20, 30, 40, 50 или 60 дней после введения антитела к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R присутствует на терапевтически эффективных уровнях в сыворотке или в тканях глаза указанного человека. В вариантах осуществления определяют терапевтически эффективный уровень антитела к TNF $\alpha$ , к IL6, или к IL6R (в испытаниях с участием людей, животных моделях, и т. д.) для улучшения остроты зрения с максимальной коррекцией (BCVA) на  $\geq 2$  строки ETDRS или увеличения logMAR, снижения воспалительной активности передней и задней камеры по классификации SUN и/или снижения степени помутнения стекловидного тела.

[0036] чПМ мкАт или чПМ антигенсвязывающий фрагмент, кодируемые трансгеном, может включать, помимо прочего, полноразмерный или антигенсвязывающий фрагмент терапевтического антитела, которые связываются с TNF $\alpha$ , включая, помимо прочего, адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб, или к IL6, или к IL6R, включая, помимо прочего, сатрализумаб, сарилумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилизумаб или тоцилизумаб. Аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей антигенсвязывающих фрагментов вышеперечисленных представлены в **таблице 7**, *ниже*. Вариабельный домен тяжелой цепи, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21 или 23 (кодируется нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, или 44, соответственно), и вариабельный домен легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 или 22 (кодируется нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43 или 45, соответственно). чПМ мкАт или чПМ антигенсвязывающий фрагмент, кодируемые трансгеном, может включать, помимо прочего, полноразмерный или антигенсвязывающий фрагмент терапевтического антитела или антигенсвязывающие фрагменты, сконструированные таким образом, чтобы они содержали дополнительные сайты гликозилирования на домене Fab (например, см. Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, который полностью включен в данный документ посредством ссылки для

описания производных антител, которые являются гипергликозилированными в домене Fab полноразмерного антитела).

[0037] Рекомбинантный вектор, используемый для доставки трансгена, включает нереплицирующиеся векторы на основе рекомбинантного аденоассоциированного вируса («rAAV»). rAAV являются особенно привлекательными векторами по ряду причин – они могут быть модифицированы для преимущественного нацеливания на определенный выбранный орган; и существуют сотни серотипов капсида на выбор для получения желаемой тканевой специфичности и/или избегания нейтрализации уже существующими антителами пациента к некоторым AAV. Используемые в данном документе типы AAV преимущественно нацелены на глаз, т.е. обладают тропизмом к клеткам сетчатки. Такие rAAV включают, но не ограничиваются ими, векторы на основе AAV, содержащие капсидные компоненты одного или более из AAV1, AAV2, AAV3, AAV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAV9, AAV9e, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39, AAVhu.37, AAVrh73, AAVrh74, AAV.hu51, AAV.hu21, AAV.hu12, или AAV.hu26. В определенных вариантах осуществления векторы на основе AAV, представленные в данном документе, содержат капсиды из одного или более серотипов A2.7m8, AAV3B, AAV8, AAV9, AAVrh10, AAV10, или AAVrh73.

[0038] Однако можно использовать другие вирусные векторы, включая, но не ограничиваясь ими, лентивирусные векторы; векторы на основе вируса осповакцины или невирусные экспрессирующие векторы, называемые конструкциями «голой ДНК». Экспрессия трансгена может контролироваться конститутивными или тканеспецифическими элементами контроля экспрессии.

[0039] Конструкции для генной терапии сконструированы таким образом, что экспрессируются как тяжелые, так и легкие цепи. В определенных вариантах осуществления экспрессируются полноразмерные тяжелая и легкая цепи антитела. В определенных вариантах осуществления кодирующие последовательности кодируют Fab или F(ab')<sub>2</sub> или scFv. Тяжелые и легкие цепи должны экспрессироваться примерно в равных количествах, другими словами, тяжелые и легкие цепи экспрессируются в соотношении тяжелых цепей к легким цепям примерно 1:1. Кодирующие последовательности для тяжелой и легкой цепей могут быть сконструированы в единой конструкции, в которой тяжелая и легкая цепи разделены расщепляемым линкером или IRES, так что экспрессируются отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепей. В конкретных вариантах осуществления линкер, разделяющий тяжелую и легкую цепи, представляет собой линкер фурин-2A, например, линкер фурин-F2A RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:143 или 144) или линкер

фурин-T2A RKRR(GSG) EGRGSLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO:141 или 142). В конкретных вариантах осуществления конструкция экспрессирует от N-конца к С-концу NH<sub>2</sub>-VL-линкер-VH-COOH или NH<sub>2</sub>-VH-линкер-VL-COOH. В других вариантах осуществления конструкция экспрессирует от N-конца к С-концу NH<sub>2</sub>-сигнал или последовательность локализации-VL-линкер-VH-COOH или NH<sub>2</sub>-сигнал или последовательность локализации-VH-линкер-VL-COOH. В других вариантах осуществления конструкции экспрессируют scFv, в котором переменные домены тяжелой и легкой цепей соединены гибким нерасщепляемым линкером.

[0040] В определенных вариантах осуществления нуклеиновые кислоты (например, полинуклеотиды) и последовательности нуклеиновых кислот, раскрытые в данном документе, могут быть оптимизированы по кодонам, например, с помощью любого метода оптимизации кодонов, известного специалисту в данной области техники (см., например, обзор Quax et al., 2015, Mol Cell 59:149-161), а также может быть оптимизирован для уменьшения CpG-димеров. Кодон-оптимизированные последовательности тяжелой и легкой цепей адалимумаба представлены в **таблице 8** (SEQ ID NO: 46-60). Для каждой тяжелой и легкой цепи требуется сигнальная последовательность для обеспечения надлежащей посттрансляционной обработки и секреции (если не экспрессируется как scFv, в котором только для N-концевой цепи требуется сигнальная последовательность). В данном документе описаны полезные сигнальные последовательности для экспрессии тяжелых и легких цепей терапевтических антител в клетках человека. Примеры рекомбинантных конструкций экспрессии показаны на **Фиг. 1А и 1В**.

[0041] Продукция чПМ мкАт или чПМ Fab (включая чПМ scFv) должна приводить к созданию молекулы «с улучшенными характеристиками» для лечения заболевания, осуществляемого с помощью генной терапии, например, путем введения вирусного вектора или другой конструкции экспрессии ДНК, кодирующей полноразмерный чПМ мкАт или чПМ Fab или другой антигенсвязывающий фрагмент, такой как scFv, терапевтического мкАт, пациенту (субъекту-человеку), у которого диагностировано заболевание, для которого показано это мкАт, для создания постоянного депо у субъекта, которое непрерывно обеспечивает человеческий гликозилированный, сульфатированный продукт трансгена, продуцируемый трансдуцированными клетками субъекта. Конструкция кДНК для чПМ мкАт или чПМ Fab или чПМ scFv должна включать сигнальный пептид, который обеспечивает надлежащий ко- и посттрансляционный процессинг (гликозилирование и сульфатирование белка) трансдуцированными клетками человека.

[0042] Фармацевтические композиции, подходящие для введения людям, включают суспензию рекомбинантного вектора в буфере для состава, содержащем физиологически

совместимый водный буфер, поверхностно-активное вещество и необязательные эксципиенты. Такой буфер для состава может содержать один или более из полисахаридов, поверхностно-активных веществ, полимеров или масел.

[0043] В качестве альтернативы или дополнительного лечения к генной терапии полноразмерные чПМ мкАт или чПМ Fab или другой их антигенсвязывающий фрагмент можно получать в линиях клеток человека с помощью технологии рекомбинантной ДНК, и гликопротеин можно вводить пациентам. Линии клеток человека, которые можно использовать для такой продукции рекомбинантных гликопротеинов, включают, но не ограничиваются ими, клетки эмбриональной почки человека 293 (HEK293), фибросаркомы HT-1080, НКВ-11, CAP, HuH-7 и линии клеток сетчатки, PER.C6, или RPE и это лишь некоторые из тех (например, см. Dumont et al., 2015, Crit. Rev. Biotechnol. 36(6):1110-1122, который полностью включен в качестве ссылки для обзора линий клеток человека, которые могут быть использованы для рекомбинантной продукции препарата чПМ мкАт, чПМ Fab или чПМ scFv, например, гликопротеина чПМ Fab). Для гарантирования полного гликозилирования, особенно сиалирования и сульфатирования тирозина, линия клеток, используемая для продукции, может быть усилена путем инженерии клеток-хозяев для совместной экспрессии  $\alpha$ -2,6-сиалилтрансферазы (или обеих  $\alpha$ -2,3- и  $\alpha$ -2,6-сиалилтрансферазы) и/или ферментов TPST-1 и TPST-2, ответственных за O-сульфатирование тирозина в клетках человека.

[0044] Необязательно, чтобы каждая молекула, полученная с помощью генной терапии или протеинотерапии, была полностью гликозилирована и сульфатирована. Точнее, совокупность продуцируемых гликопротеинов должна иметь достаточное гликозилирование (включая 2,6-сиалирование) и сульфатирование, чтобы продемонстрировать эффективность. Целью генной терапии согласно изобретению является замедление или остановка прогрессирования заболевания.

[0045] Виды комбинированной терапии, включающие доставку полноразмерных чПМ мкАт или чПМ Fab или их антигенсвязывающего фрагмента пациенту, сопровождаемые введением других доступных средств для лечения, охватываются способами по данному изобретению. Дополнительные средства для лечения можно вводить до, одновременно или после генной терапии. Такие дополнительные средства для лечения могут включать, но не ограничиваются ими, совместную терапию терапевтическим мкАт.

[0046] Также представлены способы производства вирусных векторов, в частности вирусных векторов на основе AAV. В конкретных вариантах осуществления представлены способы получения рекомбинантных AAV, включающие культивирование клетки-хозяина, содержащей искусственный геном, содержащий цис-кассету экспрессии, фланкированную

I<sub>TR</sub> AAV, при этом цис-кассета экспрессии содержит трансен, кодирующий терапевтическое антитело, функционально связанный с элементами контроля экспрессии, которые будут контролировать экспрессию трансгена в клетках человека; транс-кассету экспрессии без I<sub>TR</sub> AAV, при этом транс-кассета экспрессии кодирует гер и капсидный белок AAV, функционально связанный с элементами контроля экспрессии, которые управляют экспрессией гер и капсидных белков AAV в клетке-хозяине в культуре и обеспечивают белки гер и сар в транс-расположении; достаточное функционирование хелпера аденовируса для обеспечения репликации и упаковки искусственного генома капсидными белками AAV; и выделение рекомбинантного AAV, инкапсулирующего искусственный геном, из культуры клеток.

### 5.1 КОНСТРУКЦИИ

[0047] В данном документе предложены вирусные векторы или другие конструкции экспрессии ДНК, кодирующие чПМ мкАт к TNF $\alpha$ , IL6 или к IL6 или их антигенсвязывающий фрагмент, в частности HuGlyFab, или гипергликозилированное производное антигенсвязывающего фрагмента чПМ мкАт. Вирусные векторы и другие конструкции для экспрессии ДНК, представленные в данном документе, включают любой подходящий способ доставки трансгена в клетку-мишень. Способы доставки трансгена включают вирусные векторы, липосомы, другие липидсодержащие комплексы, другие макромолекулярные комплексы, синтетическую модифицированную мРНК, немодифицированную мРНК, малые молекулы, биологически неактивные молекулы (например, частицы золота), полимеризованные молекулы (например, дендримеры), голую ДНК, плазмиды, фаги, транспозоны, космиды или эписомы. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой нацеленный вектор, например, вектор, нацеленный на клетки ткани глаза, или вектор, обладающий тропизмом к клеткам ткани глаза.

[0048] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте для применения, при этом нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую чПМ мкАт или HuGlyFab, или другой их антигенсвязывающий фрагмент, в качестве трансгена, описанного в данном документе, функционально связанную с универсальным промотором, специфическим для ткани глаза промотором, или индуцируемым промотором, при этом промотор выбран для экспрессии в целевой ткани для экспрессии трансгена. Промоторы могут, например, представлять собой промотор SV7/CAG (SEQ ID NO: 73) и ассоциированные расположенные выше регуляторные последовательности, промотор цитомегаловируса (CMV), промотор EF-1 альфа (SEQ ID NO: 76), mU1a (SEQ ID NO: 75), промотор UB6, промотор куриного бета-

актина (CBA) и промоторы, специфичные для тканей глаза, такие как промотор родопсинкиназы человека (GRK1) (SEQ ID NO: 77 или 217), промотор аррестина колбочек мыши (CAR) (SEQ ID NO: 214-216) или промотор красного опсина человека (RedO) (SEQ ID NO: 212). См. таблицы 1 и 1a для перечня полезных промоторов.

[0049] В определенных вариантах осуществления в данном документе представлены рекомбинантные векторы, которые содержат одну или более нуклеиновых кислот (например, полинуклеотиды). Нуклеиновые кислоты могут содержать ДНК, РНК или комбинацию ДНК и РНК. В определенных вариантах осуществления ДНК содержит одну или более последовательностей, выбранных из группы, состоящей из промоторных последовательностей, последовательности представляющего интерес гена ( трансгена, например, нуклеотидных последовательностей, кодирующих тяжелую и легкую цепи чПМ мкАт или HuGlyFab или другой антигенсвязывающий фрагмент), нетранслируемые области и терминирующие последовательности. В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат промотор, функционально связанный с представляющим интерес геном.

[0050] В определенных вариантах осуществления нуклеиновые кислоты (например, полинуклеотиды) и последовательности нуклеиновых кислот, описанные в данном документе, могут быть кодон-оптимизированы, например, с помощью любого метода оптимизации кодонов, известного специалисту в данной области техники (см., например, обзор Quax et al., 2015, Mol Cell 59:149-161).

[0051] В конкретном варианте осуществления описанные в данном документе конструкции содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, фланкирующие кассету экспрессии; (2) один или более элементов контроля, b) необязательно интрон куриного  $\beta$ -актина или другой интрон и с) поли(А)-сигнал кроличьего  $\beta$ -глобина; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелую и легкую цепи мкАт или Fab, разделенные саморасщепляющимся линкером фурин (F)/(F/T)2A (SEQ ID NO: 141-144), что обеспечивает экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративная конструкция показана на **Фиг. 1А и 1В**.

[0052] В конкретном варианте осуществления конструкции, описанные в данном документе, содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют кассету экспрессии; (2) промотор GRK1 (SEQ ID NO:77), b) необязательно, интрон VH4 (SEQ ID NO:80) или другой интрон и с) поли(А)-сигнал  $\beta$ -глобина кролика (SEQ ID NO:78); и (3) последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие полноразмерное антитело, содержащее последовательности тяжелой и легкой

цепи, с использованием последовательностей, которые кодируют часть Fab тяжелой цепи, включая последовательность шарнирной области, плюс полипептид Fc тяжелой цепи для подходящего изотипа и легкой цепи, при этом нуклеотидные последовательности тяжелой и легкой цепей разделены саморасщепляющимся линкером фурин (F)/(F/T)2A (SEQ ID NO: 141 или 144), что обеспечивает экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей.

### 5.1.1 Векторы на основе мРНК

[0053] В определенных вариантах осуществления, в качестве альтернативы векторам на основе ДНК, векторы, представленные в данном документе, представляют собой модифицированную мРНК, кодирующую представляющий интерес ген (например, трансген, например, чПМ мкАт или HuGlyFab или их другой антигенсвязывающий фрагмент). Синтез модифицированной и немодифицированной мРНК для доставки трансгена к клеткам пигментного эпителия сетчатки описан, например, в Hansson et al., J. Biol. Chem., 2015, 290(9):5661-5672, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки. В определенных вариантах осуществления в данном документе представлена модифицированная мРНК, кодирующая чПМ мкАт, чПМ Fab или чПМ scFv.

### 5.1.2 Вирусные векторы

[0054] Вирусные векторы включают векторы на основе аденовируса, аденоассоциированного вируса (AAV, например, AAV2.7m8, AAV8, AAV9, AAVrh10, AAV10), лентивируса, хелпер-зависимого аденовируса, вируса простого герпеса, поксвируса, гемагглютинирующего японского вируса (HJV), альфавируса, вируса коровьей оспы, и ретровируса. Векторы на основе ретровируса включают векторы на основе вируса лейкоза мышей (MLV) и вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Векторы на основе альфавируса включают вирус леса Семлики (SFV) и вирус Синдбис (SIN). В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, представляют собой рекомбинантные вирусные векторы. В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, изменены так, что они являются дефицитными по репликации у людей. В определенных вариантах осуществления вирусные векторы представляют собой гибридные векторы, например, вектор AAV, помещенный в аденовирусный вектор «без хелпера». В определенных вариантах осуществления в данном документе представлены вирусные векторы, содержащие вирусный капсид из первого вируса и белки вирусной оболочки из второго вируса. В конкретных вариантах осуществления второй вирус представляет собой вирус везикулярного стоматита (VSV). В более конкретных вариантах осуществления белок оболочки представляет собой белок VSV-G.

[0055] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, представляют собой вирусные векторы на основе ВИЧ. В определенных вариантах осуществления векторы на основе ВИЧ, представленные в данном документе, содержат по меньшей мере два полинуклеотида, при этом гены gag и pol получены из генома ВИЧ, а ген env получены из другого вируса.

[0056] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, представляют собой вирусные векторы на основе вируса простого герпеса. В определенных вариантах осуществления векторы на основе вируса простого герпеса, представленные в данном документе, модифицированы таким образом, что они не содержат один или более немедленно ранних (IE) генов, что делает их нецитотоксичными.

[0057] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, представляют собой вирусные векторы на основе MLV. В определенных вариантах осуществления векторы на основе MLV, представленные в данном документе, содержат до 8 т.п.н. гетерологичной ДНК вместо вирусных генов.

[0058] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, представляют собой вирусные векторы на основе лентивирусов. В определенных вариантах осуществления лентивирусные векторы, представленные в данном документе, получены из лентивирусов человека. В определенных вариантах осуществления лентивирусные векторы, представленные в данном документе, получены из нечеловеческих лентивирусов. В определенных вариантах осуществления лентивирусные векторы, представленные в данном документе, упакованы в лентивирусный капсид. В определенных вариантах осуществления лентивирусные векторы, представленные в данном документе, содержат один или более из следующих элементов: длинные концевые повторы, сайт связывания праймера, полипуриновый тракт, сайты att и сайт инкапсулирования.

[0059] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, представляют собой вирусные векторы на основе альфавирусов. В определенных вариантах осуществления альфавирусные векторы, представленные в данном документе, представляют собой рекомбинантные дефектные по репликации альфавирусы. В определенных вариантах осуществления альфавирусные репликоны в альфавирусных векторах, представленных в данном документе, нацелены на конкретные типы клеток путем экспонирования функционального гетерологичного лиганда на их поверхности вириона.

[0060] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы,

представленные в данном документе, представляют собой вирусные векторы на основе AAV. В определенных вариантах осуществления векторы на основе AAV, представленные в данном документе, не кодируют ген гер AAV (необходимый для репликации) и/или ген сар AAV (необходимый для синтеза капсидных белков) (белки гер и сар могут быть обеспечены упаковывающими клетками в транс-расположении). Идентифицировано множество серотипов AAV. В определенных вариантах осуществления векторы на основе AAV, представленные в данном документе, содержат компоненты из одного или более серотипов AAV. В предпочтительных вариантах осуществления векторы на основе AAV, предложенные в данном документе, содержат компоненты одного или нескольких серотипов AAV с тропизмом к тканям глаза, печени и/или мышцам. В некоторых вариантах осуществления векторы на основе AAV, предложенные в данном документе, содержат капсидные компоненты одного или более из AAV1, AAV2, AAV3, AAV3B, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAVrh8, AAV9, AAV9e, AAVrh10, AAVrh20, AAVrh39, AAVhu.37, AAVrh73, AAVrh74, AAV.hu51, AAV.hu21, AAV.hu12, или AAV.hu26. В определенных вариантах осуществления векторы на основе AAV, представленные в данном документе, представляют собой или содержат компоненты из одного или более серотипов AAV8, AAV3B, AAV9, AAV10, AAVrh73, или AAVrh10. Предложены вирусные векторы, в которых капсидный белок является вариантом капсидного белка AAV8 (SEQ ID NO: 196), капсидного белка AAV3B (SEQ ID NO: 190) или капсидного белка AAVrh73 (SEQ ID NO: 202), и капсидный белок, например, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 99,9% идентичен аминокислотной последовательности капсидного белка AAV8 (SEQ ID NO: 196), капсидного белка AAV3B (SEQ ID NO: 190) или капсидного белка AAVrh73 (SEQ ID NO: 202), сохраняя при этом биологическую функцию нативного капсида. В определенных вариантах осуществления кодируемый капсид AAV имеет последовательность SEQ ID NO: 196 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотными заменами и сохранением биологической функции капсида AAV8, AAV3B или AAVrh73. На **Фиг. 4** представлено сравнительное выравнивание аминокислотных последовательностей капсидных белков различных серотипов AAV с потенциальными аминокислотами, которые могут быть заменены в определенных положениях в выровненных последовательностях на основе сравнения в строке, обозначенной SUBS. Соответственно, в конкретных вариантах осуществления вектор AAV содержит вариант капсида AAV8, AAV3B, или AAVrh73, который имеет 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислотных замен, которые не присутствуют в этом положении в последовательности нативного капсида AAV, как указано в ряде SUBS на **Фиг. 4**. Аминокислотная

последовательность для капсидов AAV8, AAV3B или AAVrh73 представлена на **Фиг. 4**.

[0061] Аминокислотную последовательность капсида hu37 можно найти в международной заявке PCT WO 2005/033321 (SEQ ID NO: 88), а аминокислотную последовательность капсида rh8 можно найти в международной заявке PCT WO 03/042397 (SEQ ID NO:97). Аминокислотная последовательность последовательности rh64R1 представлена в WO 2006/110689 (замена R697W последовательности Rh.64, которая представляет собой SEQ ID NO: 43 из WO 2006/110689).

[0062] В некоторых вариантах осуществления векторы на основе AAV содержат компоненты из одного или более серотипов AAV. В некоторых вариантах осуществления векторы на основе AAV, представленные в данном документе, содержат компоненты капсида из одного или более из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15, AAV16, AAVS3, AAV.rh8, AAV.rh10, AAV.rh20, AAV.rh39, AAV.rh46, AAV.rh73, AAV.Rh74, AAV.RHM4-1, AAV.hu37, AAV.Anc80, AAV.Anc80L65, AAV.7m8, AAV.PHP.B, AAV.PHP.eB, AAV2.5, AAV2tYF, AAV3B, AAV.LK03, AAV.HSC1, AAV.HSC2, AAV.HSC3, AAV.HSC4, AAV.HSC5, AAV.HSC6, AAV.HSC7, AAV.HSC8, AAV.HSC9, AAV.HSC10, AAV.HSC11, AAV.HSC12, AAV.HSC13, AAV.HSC14, AAV.HSC15, или AAV.HSC16, или других частиц гAAV, или комбинаций двух или более из них. В некоторых вариантах осуществления векторы на основе AAV, представленные в данном документе, содержат компоненты из одного или более из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15, AAV16, AAVS3, AAV.rh8, AAV.rh10, AAV.rh20, AAV.rh39, AAV.rh46, AAV.rh73, AAV.Rh74, AAV.RHM4-1, AAV.hu37, AAV.Anc80, AAV.Anc80L65, AAV.7m8, AAV.PHP.B, AAV.PHP.eB, AAV2.5, AAV2tYF, AAV3B, AAV.LK03, AAV.HSC1, AAV.HSC2, AAV.HSC3, AAV.HSC4, AAV.HSC5, AAV.HSC6, AAV.HSC7, AAV.HSC8, AAV.HSC9, AAV.HSC10, AAV.HSC11, AAV.HSC12, AAV.HSC13, AAV.HSC14, AAV.HSC15, или AAV.HSC16, или других частиц гAAV, или комбинаций двух или более серотипов. В некоторых вариантах осуществления частицы гAAV содержат белок капсида, который на по меньшей мере 80% или более, например 85%, 85%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% и т.д., т.е. до 100% идентичен, например, последовательности VP1, VP2 и/или VP3 серотипа капсида AAV, выбранного из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15, AAV16, AAVS3, AAV.rh8, AAV.rh10, AAV.rh20, AAV.rh39, AAV.rh46, AAV.rh73, AAV.Rh74, AAV.RHM4-1, AAV.hu37, AAV.Anc80, гAAV.Anc80L65, AAV.7m8, AAV.PHP.B, AAV.PHP.eB, AAV2.5, AAV2tYF, AAV3B, AAV.LK03, AAV.HSC1, AAV.HSC2, AAV.HSC3, AAV.HSC4, AAV.HSC5, AAV.HSC6, AAV.HSC7, AAV.HSC8, AAV.HSC9, AAV.HSC10, AAV.HSC11, AAV.HSC12, AAV.HSC13,

AAV.HSC14, AAV.HSC15, или AAV.HSC16, или его производного, модификации или псевдотипа.

[0063] В конкретных вариантах осуществления рекомбинантный AAV для применения в композициях и способах по данному документу представляет собой AAVS3 (включая его варианты) (см., например, заявку на патент США № 20200079821, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки). В конкретных вариантах осуществления частицы гAAV содержат капсиды AAV-LK03 или AAV3B, как описано в Puzzo et al., 2017, *Sci. Transl. Med.* 29(9): 418, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме. В конкретных вариантах осуществления AAV для применения в композициях и способах по настоящему изобретению представляет собой любой AAV, описанный в US 10301648, такой как AAV.rh46 или AAV.rh73. В конкретных вариантах осуществления рекомбинантный AAV для применения в композициях и способах, описанных в данном документе, представляет собой Anc80 или Anc80L65 (см., например, Zinn et al., 2015, *Cell Rep.* 12 (6): 1056-1068, который полностью включен посредством ссылки). В конкретных вариантах осуществления AAV для применения в композициях и способах, описанных в данном документе, представляет собой любой AAV, описанный в US 9585971, такой как AAV-PHP.B. В конкретных вариантах осуществления AAV для применения в композициях и способах по данному изобретению представляет собой вектор AAV2/Rec2 или AAV2/Rec3, который имеет гибридные капсидные последовательности, полученные из AAV8 и серотипов *cy5*, *rh20* или *rh39* (см., например, Issa et al., 2013, *PLoS One* 8 (4): e60361, который включен в данный документ посредством ссылки для этих векторов). В конкретных вариантах осуществления AAV для применения в композициях и способах, описанных в данном документе, представляет собой AAV, раскрытый в любом из нижеследующего, каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки: US 7282199; US 7906111; US 8524446; US 8999678; US 8628966; US 8927514; US 8734809; US 9284357; US 9409953; US 9169299; US 9193956; US 9458517; US 9587282; US 2015/0374803; US 2015/0126588; US 2017/0067908; US 2013/0224836; US 2016/0215024; US 2017/0051257; PCT/US2015/034799; и PCT/EP2015/053335. В некоторых вариантах осуществления частицы гAAV содержат белок капсида, который на по меньшей мере 80% или более, например, 85%, 85%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% и т.д., т.е. до 100% идентичен последовательности VP1, VP2 и/или VP3 капсида AAV, раскрытого в любом/любой из следующих патентов и заявок на патенты, каждая из которых полностью включена в данный документ посредством ссылки: патенты США №№ 7282199; 7906111; 8524446; 8999678; 8628966; 8927514; 8734809; US 9284357; 9409953; 9169299; 9193956; 9458517; и 9587282;

публикации заявок на патенты США №№ 2015/0374803; 2015/0126588; 2017/0067908; 2013/0224836; 2016/0215024; 2017/0051257; и международные заявки на патент №№ PCT/US2015/034799; PCT/EP2015/053335.

[0064] В некоторых вариантах осуществления частицы гAAV содержат любой капсид AAV, раскрытый в патенте США № 9840719 и WO 2015/013313, такой как AAV.Rh74 и RHM4-1, каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления частицы гAAV содержат любой капсид AAV, описанный в WO 2014/172669, такой как AAV rh.74, который полностью включен в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления частицы гAAV содержат капсид AAV2/5, как описано в Georgiadis et al., 2016, Gene Therapy 23: 857-862 и Georgiadis et al., 2018, Gene Therapy 25: 450, каждый из которых включен по ссылке в полном объеме. В некоторых вариантах осуществления частицы гAAV содержат любой капсид AAV, описанный в WO 2017/070491, такой как AAV2tYF, который полностью включен в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления частицы гAAV содержат любой капсид AAV, описанный в патентах США №№ 8628966; US 8927514; US 9923120 и WO 2016/049230, такие как HSC1, HSC2, HSC3, HSC4, HSC5, HSC6, HSC7, HSC8, HSC9, HSC10, HSC11, HSC12, HSC13, HSC14, HSC15 или HSC16, каждый из которых включен посредством ссылки в полном объеме.

[0065] В некоторых вариантах осуществления частицы гAAV содержат белок капсида, описанный в межд. публ. заявки № WO 2003/052051 (см., например, SEQ ID NO: 2 публикации '051), WO 2005/033321 (см., например, SEQ ID NO: 123 и 88 публикации '321), WO 03/042397 (см., например, SEQ ID NO: 2, 81, 85 и 97 публикации '397), WO 2006/068888 (см., например, SEQ ID NO: 1 и 3-6 публикации '888), WO 2006/110689, (см., например, SEQ ID NO: 5-38 публикации '689) WO2009/104964 (см., например, SEQ ID NO: 1-5, 7, 9, 20, 22, 24 и 31 публикации '964), WO 2010/127097 (см., например, SEQ ID NO: 5-38 публикации '097) и WO 2015/191508 (см., например, SEQ ID NO: 80-294 публикации '508) и публ. заявки США № 20150023924 (см., например, SEQ ID NO: 1, 5-10 публикации '924), содержание каждого из которых полностью включено в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления частицы гAAV имеют белок капсида, который на по меньшей мере 80% или более, например, 85%, 85%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% и т.д., т.е. до 100% идентичен последовательности VP1, VP2 и/или VP3 капсида AAV, раскрытого в межд. публ. заявки № WO 2003/052051 (см., например, SEQ ID NO: 2 из публикации '051), WO 2005/033321 (см. например, SEQ ID NO: 123 и 88 из публикации '321), WO 03/042397 (см., например, SEQ ID NO: 2, 81, 85, и 97 из публикации '397), WO 2006/068888 (см., например, SEQ ID NO: 1 и 3-6 из публикации '888),

WO 2006/110689 (см., например, SEQ ID NO: 5-38 из публикации '689) WO2009/104964 (см., например, SEQ ID NO: 1-5, 7, 9, 20, 22, 24 и 31 из публикации 964), WO 2010/127097 (см., например, SEQ ID NO: 5-38 из публикации '097), и WO 2015/191508 (см., например, SEQ ID NO: 80-294 из публикации '508), и заявки США № 20150023924 (см., например, SEQ ID NO: 1, 5-10 публикации '924).

[0066] В дополнительных вариантах осуществления частицы гAAV содержат капсид псевдотипированного AAV. В некоторых вариантах осуществления капсиды псевдотипированного AAV представляют собой капсиды псевдотипированного AAV гAAV2/8 или гAAV2/9. Способы получения и применения псевдотипированных частиц гAAV известны в данной области техники (см., например, Duan et al., *J. Virol.*, 75:7662-7671 (2001); Halbert et al., *J. Virol.*, 74:1524-1532 (2000); Zolotukhin et al., *Methods* 28:158-167 (2002); и Auricchio et al., *Hum. Molec. Genet.* 10:3075-3081, (2001).

[0067] В некоторых описанных в данном документе способах используют вирусные векторы на основе AAV8, на основе AAV3B и на основе AAVrh73. Нуклеотидные последовательности вирусных векторов на основе AAV и способы получения рекомбинантных капсидов AAV и AAV описаны, например, в патенте США № 7282199 B2, патенте США №7790449 B2, патенте США № 8318480 B2, патенте США № 8962332 B2 и международной заявке на патент № PCT/EP2014/076466, каждая из которых полностью включена в данный документ посредством ссылки. В одном аспекте в данном документе представлены вирусные векторы на основе AAV (например, AAV8, AAV3B, AAVrh73, или AAVrh10), кодирующие трансген (например, чПМ Fab). Аминокислотные последовательности капсидов AAV, включая AAV8, AAV3B, AAVrh73 и AAVrh10, представлены на **Фиг. 4**.

[0068] В определенных вариантах осуществления можно использовать описанный выше одноцепочечный AAV (ssAAV). В определенных вариантах осуществления может использоваться самокомплементарный вектор, например, scAAV (см., например, Wu, 2007, *Human Gene Therapy*, 18(2):171-82, McCarty et al, 2001, *Gene Therapy*, Vol 8, Number 16, страницы 1248-1254; и патенты США №№ 6596535; 7125717; и 7456683, каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки).

[0069] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, используемые в описанных в данном документе способах, представляют собой вирусные векторы на основе аденовируса. Рекомбинантный аденовирусный вектор можно использовать для переноса трансгена, кодирующего чПМ мкАт или HuGlyFab, или антигенсвязывающий фрагмент. Рекомбинантный аденовирус может представлять собой вектор первого поколения с делецией E1, с делецией E3 или без нее, а также с кассетой экспрессии,

вставленной в любую удаленную область. Рекомбинантный аденовирус может быть вектором второго поколения, который содержит полные или частичные делеции областей E2 и E4. Хелпер-зависимый аденовирус сохраняет только инвертированные концевые повторы аденовируса и сигнал упаковки ( $\phi$ ). Трансген вставляется между сигналом упаковки и 3'ITR, со спейсерными последовательностями или без них, чтобы сохранить геном, близкий по размеру с диким типом, приблизительно 36 т.п.н. Иллюстративный протокол для получения аденовирусных векторов можно найти в Alba et al., 2005, "Gutless adenovirus: last generation adenovirus for gene therapy," *Gene Therapy* 12:S18-S27, который полностью включен в данный документ посредством ссылки.

[0070] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, используемые в описанных в данном документе способах, представляют собой вирусные векторы на основе лентивируса. Рекомбинантный лентивирусный вектор может быть использован для переноса трансгена, кодирующего антигенсвязывающий фрагмент чПМ мкАт. Для создания конструкции используются четыре плазмиды: плазмиду, содержащую последовательность Gag/pol, плазмиду, содержащую последовательность Rev, плазмиду, содержащую белок оболочки (например, VSV-G), и плазмиду Cis с элементами упаковки и геном антигенсвязывающего фрагмента анти-TNF $\alpha$ .

[0071] Для получения лентивирусного вектора четыре плазмиды котрансфицируют в клетки (например, клетки на основе HEK293), в результате чего полиэтиленимин или фосфат кальция можно использовать, среди прочего, в качестве агентов трансфекции. Затем лентивирус собирают в супернатанте (для активности лентивирусы должны отпочковываться от клеток, поэтому сбор клеток не требуется). Супернатант фильтруют (0,45 мкм), а затем добавляют хлорид магния и бензоазу. Дальнейшие процессы выделения и очистки могут широко варьироваться, при этом использование TFF и колоночной хроматографии являются наиболее совместимыми с GMP. Другие используют ультрацентрифугирование с/без колоночной хроматографии. Иллюстративные протоколы для получения лентивирусных векторов можно найти в Lesch et al., 2011, "Production and purification of lentiviral vector generated in 293T suspension cells with baculoviral vectors," *Gene Therapy* 18:531-538, и Ausubel et al., 2012, "Production of CGMP-Grade Lentiviral Vectors," *Bioprocess Int.* 10(2):32-43, оба из которых полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[0072] В конкретном варианте осуществления вектор для применения в способах, описанных в данном документе, представляет собой вектор, который кодирует чПМ мкАт, так что при введении вектора в соответствующую клетку гликозилированный и/или сульфатированный по тирозину вариант чПМ мкАт экспрессируется клеткой.

### 5.1.3 Промоторы и модификаторы экспрессии генов

[0073] В определенных вариантах осуществления векторы, представленные в данном документе, содержат компоненты, которые модулируют доставку гена или экспрессию гена (например, «элементы контроля экспрессии»). В определенных вариантах осуществления векторы, представленные в данном документе, содержат компоненты, которые модулируют экспрессию генов. В определенных вариантах осуществления векторы, представленные в данном документе, содержат компоненты, которые влияют на связывание или нацеливание на клетки. В определенных вариантах осуществления векторы, представленные в данном документе, содержат компоненты, которые влияют на локализацию полинуклеотида (например, трансгена) в клетке после поглощения. В определенных вариантах осуществления векторы, представленные в данном документе, содержат компоненты, которые можно использовать в качестве детектируемых или селективируемых маркеров, например, для обнаружения или отбора клеток, которые поглотили полинуклеотид.

[0074] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат один или несколько промоторов, которые контролируют экспрессию трансгена. Эти промоторы (и другие регуляторные элементы, контролирующие транскрипцию, такие как энхансеры) могут быть конститутивными (способствовать повсеместной экспрессии) или могут специфически или селективно экспрессироваться внутри глаза. В определенных вариантах осуществления промотор представляет собой конститутивный промотор.

[0075] В определенных вариантах осуществления промотор представляет собой CB7 (также называемый промотором CAG) (см. Dinculescu et al., 2005, Hum Gene Ther 16: 649-663, полностью включенный в данный документ посредством ссылки). В некоторых вариантах осуществления промотор CAG (SEQ ID NO:74) или CB7 (SEQ ID NO:73) включает другие элементы регуляции экспрессии, которые усиливают экспрессию трансгена, управляемую вектором. В определенных вариантах осуществления другие элементы регуляции экспрессии включают интрон куриного  $\beta$ -актина и/или поли(A)-сигнал  $\beta$ -глобина кролика (SEQ ID NO:78). В определенных вариантах осуществления промотор содержит ТАТА-бокс. В определенных вариантах осуществления промотор содержит один или более элементов. В определенных вариантах осуществления один или более промоторных элементов могут быть инвертированы или перемещены относительно друг друга. В определенных вариантах осуществления элементы промотора расположены для совместного функционирования. В определенных вариантах осуществления элементы промотора расположены так, чтобы функционировать независимо. В определенных

вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат один или более промоторов, выбранных из группы, состоящей из промотора немедленно раннего гена CMV человека, раннего промотора SV40, длинного концевой повтора вируса саркомы Рауса (RS) и промотора крысиного инсулина. В определенных вариантах осуществления векторы, представленные в данном документе, содержат один или более промоторов с длинным концевым повтором (LTR), выбранных из группы, состоящей из LTR AAV, MLV, MMTV, SV40, RSV, ВИЧ-1 и ВИЧ-2.

[0076] В определенных вариантах осуществления векторы, представленные в данном документе, содержат один или более тканеспецифичных промоторов (например, специфичный для сетчатки промотор). В конкретных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат промотор, специфичный для клеток ткани глаза, такой как промотор родопсинкиназы человека (GRK1) (SEQ ID NO: 77 или 217), промотор аррестина колбочек мыши (CAR) (SEQ ID NO: 214-216) или промотор красного опсина человека (RedO) (SEQ ID NO: 212).

[0077] Предложены регуляторные элементы нуклеиновой кислоты, которые являются химерными в отношении расположения элементов в тандеме в каскаде экспрессии. Регуляторные элементы, в общем, выполняют множество функций в качестве сайтов узнавания для инициации или регуляции транскрипции, координации со специфическим к клеткам механизмом для управления экспрессией при сигналинге и для усиления экспрессии расположенного ниже гена.

[0078] В определенных вариантах осуществления промотор представляет собой индуцируемый промотор. В определенных вариантах осуществления промотор представляет собой индуцируемый гипоксией промотор. В определенных вариантах осуществления промотор содержит сайт связывания индуцируемого гипоксией фактора (HIF). В определенных вариантах осуществления промотор содержит сайт связывания HIF-1 $\alpha$ . В определенных вариантах осуществления промотор содержит сайт связывания HIF-2 $\alpha$ . В определенных вариантах осуществления сайт связывания HIF содержит мотив RCGTG (SEQ ID NO: 227). Для получения подробной информации о расположении и последовательности сайтов связывания HIF см., например, Schödel, et al., Blood, 2011, 117(23):e207-e217, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки. В определенных вариантах осуществления промотор содержит сайт связывания для индуцируемого гипоксией фактора транскрипции, кроме фактора транскрипции HIF. В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат один или более сайтов IRES, которые предпочтительно транслируются при гипоксии. Для получения информации относительно индуцируемой гипоксией

экспрессии генов и факторов, участвующих в ней, см., например, Kenneth and Rocha, Biochem J., 2008, 414: 19-29, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки. В конкретных вариантах осуществления индуцируемый гипоксией промотор представляет собой промотор N-WASP человека, см., например, Salvi, 2017, Biochemistry and Biophysics Reports 9:13-21 (включенный посредством ссылки для получения информации о промоторе N-WASP) или индуцируемый гипоксией промотор человеческого Ерo, см., например, Tsuchiya et al., 1993, J. Biochem. 113:395-400 (включенный посредством ссылки для описания индуцируемого гипоксией промотора Ерo). В других вариантах осуществления промотор представляет собой индуцируемый лекарственным средством промотор, например, промотор, который индуцируется введением рапамицина или его аналогов. См., например, описание индуцируемых рапамицином промоторов в публикациях PCT WO94/18317, WO 96/20951, WO 96/41865, WO 99/10508, WO 99/10510, WO 99/36553 и WO 99/41258 и US 7067526, которые включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте для раскрытия индуцируемых лекарственными средствами промоторов.

[0079] В данном документе представлены конструкции, содержащие определенные универсальные и тканеспецифические промоторы. Такие промоторы включают синтетические и тандемные промоторы. Примеры и нуклеотидные последовательности промоторов представлены в **таблицах 1** и **1a** ниже. В **таблицу 1** также включены нуклеотидные последовательности других регуляторных элементов, применимых для представленных в данном документе кассет экспрессии.

**Таблица 1. Последовательности промотора и других регуляторных элементов**

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
CAG/CB7 SEQ ID NO: 73	gacattgattattgactagttattaatagtaataacacggggtcattagttcatagccataataggagttccg cgttacataacttacggtaaatggcccgctggctgaccgccaacgacccccgccattgacgtcaataa tgacgtatgttcccatagtaaacgccaataggacttccattgacgtcaatgggtggagttattacggtaaact gcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatgg ccccgctggcattatgccagtacatgaccttatgggacttctacttggcagtacatctacgtattagtcac gctattaccatggctcaggtgagccccacgttctgcttcactctccccatctccccctccccacccccaa ttttgtatttatttttttaattttttgtgcagcgatggggcgggggggggggggggggcgcgccagg cggggcgggcgggcgaggggcgggggcgggggcgaggcggagaggtgaggcgggcagccaatcag agcggcgcgctccgaaagtcttttatggcagggcgggcgggcgggccataaaaagcgaagc gcgcgggcgggcgggagtcgctgcgcgctgccttcgccccgtccccgctccgcccgcctcgcgccc ccccccccgctctgactgaccgcttactccacaggtgagcggggcgggacggcccttctcctccggg

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	<p>ctgtaattagcgttggttaatgacggctgtttctttctgtggctgctgaaagccttgaggggctccggga  gggcccctttgtgcgggggagcggctcggggggtgctgctgtgtgtgtgctgaggagcgcgcgt  gaggctccgcgtgcccggcgctgtgagcgtgaggcgcgggcggggctttgtgcgtccgcagt  gtgctgaggggagcgcggccggggcggtgccccggtgaggggggggctgagggggaacaa  aggctgctgaggggtgtgtgctgagggggtgagcagggggtgtggcgctgctggtcgggctgcaa  ccccctgacccccctccccgagttgctgagcacggcccggcttgggtgaggggctccgtacgggg  cgtggcgaggggctcgcctgcccggcggggggtggcggcaggtgggggtgccggcgggcgggg  gccgctcgggcccgggagggctcgggggaggggagggcgggcgccccggagcggcgggctgtc  gaggcgaggcagccagccattgcctttatgtaacgtgagaggggaggggacttctttgtcc  caaatctgtgaggagccaaatctgggagggcgccggcaccctctaggggagggggcgaagc  ggtgagggcgccggcaggaaggaatgggaggggagggccttctgctgctgcccgcggccgtccct  tctcctctccagcctcggggctgtccgaggggggagggctgcctcgggggggaggggagggcgg  ggtcggcttctggcgtgtgaccggcgctctagacctctgtaaccatgttcatgcttcttttctac  agctcctgggcaactgctggtattgtgctgtctcatatttggcaaag</p>
<p>CAG  (CMV- промото  р куриного  бета-  актина - химерн  ый интрон)  SEQ ID NO: 74</p>	<p>gacattgattattgactagtattataatagtaatcaattacggggtcattagttcatagcccatataggattccg  cgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgccaacgacccccgccattgacgtcaataa  tgacgtatgttccatagtaaacccaataggactttcattgacgtcaatgggtggagtattacggtaact  gcccacttggcagttacatcaagtgtatcatatgccaaagtagccccctattgacgtcaatgacggtaaatgg  cccgcctggcattatgccagttacatgacctatgggactttcctacttggcagttacatctacgtattagtcac  gtattaccatggctgaggtgagccccacgttctgcttcaactctccccatctccccccctccccaccccaa  ttttgtattatttttttaattttttgtgagcagatggggcgggggggggggggggggcgcgccagg  cggggcgggcgggcgagggggcgggggcgggggcgaggcggagaggtgaggcgccagccaatcag  agcggcgcgctccgaaagtttctttatggcgaggcggcgggcgggcgccctataaaaagcgaagc  gagcggcgggcgggagtcgtgctgctgctgcttgcggggctgccccgctcggcgccgctcgcggcg  cccgggggctctgactgaccggttactccacaggtgagcgggggggagggccttctcctcgggg  ctgtaattagcgttggttaatgacggctgtttctttctgtggctgctgaaagccttgaggggctccggga  gggcccctttgtgcgggggagcggctcggggggtgctgctgtgtgtgtgctgaggagcgcgcgt  gaggctccgcgtgcccggcgctgtgagcgtgaggcgcgggcggggctttgtgcgtccgcagt  gtgctgaggggagcgcggccggggcggtgccccggtgaggggggggctgagggggaacaa  aggctgctgaggggtgtgtgctgagggggtgagcagggggtgtggcgctgctggtcgggctgcaa  ccccctgacccccctccccgagttgctgagcacggcccggcttgggtgaggggctccgtacgggg  cgtggcgaggggctcgcctgcccggcggggggtggcggcaggtgggggtgccggcgggcgggg  gccgctcgggcccgggagggctcgggggaggggagggcgggcgggccccggagcggcgggctgtc</p>

Название/ SEQ ID NO.	Последовательность
	<p>gaggcgccgagccgagccattgcctttatggtaatcgtgcgagagggcgagggacttcctttgtcc  caaatctgtgaggagccgaaatctgggagggcgccgcccaccccccttagcgggcgccggggaagc  ggtgcccggcggcaggaaggaaatgggcccgggagggccttcgtgcgtcggcgccgcccgtccct  tctccctccagcctcggggctgtccgcccgggggacggctgccttcgggggggacggggcagggcgg  ggttcggcttctggcgtgtgaccggcggctctagagcctctgctaaccatgttcatgccttcttttctac  ag</p>
mU1a SEQ ID NO: 75	<p>atggaggcggfactatgtagatgagaattcaggagcaaaactgggaaaagcaactgcttcaaattttgtg  attttacagtgtagtttggaaaaactcttagcctaccaattcttctaagtgttttaaatgtgggagccagtac  acatgaagtatagagtgtttaatgaggctaaatattaccgtaactatgaaatgctacgcataatcatgctgtt  caggctccgtggccacgcaactcact</p>
EF-1 $\alpha$ (коровий) SEQ ID NO: 76	<p>gggcagagcgcacatcgcccacagtcgggagaaagttggggggaggggtcggcaattgaacgggtgc  ctagagaaggtggcgccgggtaaaactgggaaagtatgctgtactggctccgcttttccgagggtg  ggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgctgaacgttcttttcgcaacgggttggccgagaaca  cag</p>
UbC человека SEQ ID NO:211	<p>Gtctaacaaaaagccaaaaacggccagaatttagcggacaatttactagtctaactgaa  AattacatattgacccaaatgattacattcaaaaggtgcctaaaaactcacaaaacacactCgccaacc  ccgagcgcatagttcaaaaccggagcttcagctacttaagaagataggtacataaAaccgaccaagaa  actgacgcctcacttatccctccctcaccagaggtccggcgctgtcgaTtcaggagagcctaccctag  gcccgaaccctgctcctgcgacggagaaaagcctaccgcacaCctaccggcaggtggccccacct  gcattataagccaacagaacgggtgacgtcacgacacgaCgagggcgcgctcccaaaggtacggg  tgactgccaacggcaccgcataactgcccccCgcaacagacgacaaaaccgagttctccagtca  gtgacaaacttcacgtcagggctcccagatgGtgccccagccatctcaccgaataagagctttccgc  attagcgaaggcctcaagaccttgggTcttgcccaccatgccccacctgtttcaacgacctcac  agcccgcctcacaagcgtcttcCattcaagactcgggaacagccgcattttctgcgctcccccaacc  cccagttcagggaaccTtgctcgggaccagactacagcccttggcggtctctccacagcttccgtc  ccaccgagcggccCggcggccacgaaagccccggccagcccagcagcccgtactaccaagtac  gatcacagcgaTccacaacaagaaccgagcccaatcccggctgcgacggaactagctgtgccaca  cccggcGctccttataatcatcggcgttaccgccccagggatccctccgagaatcggcgagaa  gggActacttttctcgctgttccgctctctgaaagaaaaccagtgccttagagtcaccaagtccct  CctaaatgtccttctgctgatactggggttctaaggccgagcttatgagcagcgggcccgtctGag  cgtccgggcccgaaggatcaggacgctcgtcgccttcgtctgacgtggcagcgtcggcgtgagga  ggggggcggcccgggagggcgcacaaacccggcgaggaggcc</p>

<p>Промотор СВ SEQ ID NO: 273</p>	<p>gacgacattgattattgactagttattaatagtaaatcaattacggggtcattagttcatagcccatatatggagtt ccgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgccaacgacccccgccattgacgtca ataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttcattgacgtcaatgggtggagattttacggta aactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaa atggcccgcctggcattatgccagtacatgacctatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattag tcacgctattaccatggtcgaggtgagccccagttctgcttactctccccatctccccccctccccacc cccaatttgtattatttttttaattttttgtgcagcagatggggggcggggggggggggggggggcgcgcg ccaggcggggcgggggcgggggcgagggggcgggggcgggggcgaggcggagaggtgcgggcgagcc aatcagagcggcgcgctccgaaagtcttttatggcgaggcgggcgggcgggcgggccataaaaag cgaagcgcgcgggcgggcg</p>
<p>Промотор CBLong SEQ ID NO: 274</p>	<p>gacgacattgattattgactagttattaatagtaaatcaattacggggtcattagttcatagcccatatatggagtt ccgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgccaacgacccccgccattgacgtca ataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttcattgacgtcaatgggtggagattttacggta aactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaa atggcccgcctggcattatgccagtacatgacctatgggactttcctacttggcagtacatctacgtattag tcacgctattaccatggtcgaggtgagccccagttctgcttactctccccatctccccccctccccacc cccaatttgtattatttttttaattttttgtgcagcagatggggggcggggggggggggggggggcgcgcg ccaggcggggcgggggcgggggcgagggggcgggggcgggggcgaggcggagaggtgcgggcgagcc aatcagagcggcgcgctccgaaagtcttttatggcgaggcgggcgggcgggcgggccataaaaag cgaagcgcgcgggcgggcggggagtcgctgcgcgctgccttcgccccgtccccgctccgcccgccct cgcgccgcccggcctctgactgaccgcgttactcccacaggtgagcg</p>
<p>Человеческий красный опсин (RedO) (фоторецептор- специфическая) SEQ ID NO: 212</p>	<p>ggaggctgaggggtgggaaaggcatgggtgtttcatgaggacagagcttccgtttcat gcaatgaaaagagtttgagacggatgggtgactggactatacacttacacacggtag cgatggtacactttgtattatgtatattttaccacgatcttttaagtgtcaaaggcaa atggccaaatggctctgtctatagctgtagcagccatcggtgttagtgacaaagcc cctgagtcaagatgacagcagccccataactcctaacggctctcccgcgtggagtcatt ttaggtagtgcattagagacaagtccaacatctaattctccaccctggccagggccc cagctggcagcaggggtgggagactccgggcagagcagaggcgctgacattggggccccg gcctggcttgggtccctctggccttccccaggggccctttcttggggctttcttgg gccgccactgctcccgtctctcccccatcccaccctcaccctcgtttcata tccttcttagtgctccctccactttcatccacctctgcaagagtgtgggaccacaaa tgagtttcacctggcctggggacacacgtgccccacaggtgctgagtgacttttagg acagtaatctgtttaggctaaaatgggacttgatcttctgttagccctaataatcaatt agcagagccgggtgaaggtgcagaacctaccgcctttcaggcctcctcccactctgcca cctccactctcttctgggatgtgggggctggcacacgtgtggcccagggcattggtgg</p>

	<p>gattgactgagctgggtcattagcgtaatcctggacaagggcagacagggcgagcggag  ggccagctccgggctcaggcaaggctgggggcttccccagacaccccactcctcctet  gctggacccccacttcatagggacttcgtgttctcaaagggcttccaaatagcatggg  gccttggatgccaggggaagcctcagagttgcttatctccctctagacagaaggggaatc  tcggtcaagagggagaggtcgcctgtcaaggccaccagccagctcatggcggaatg  ggacaaggctggccagccatcccaccctcagaagggaccggggcaggtgatctcag  aggaggctcacttctgggtctcacattcttggatccggtccaggcctcgccctaaata  gtctccctgggcttcaagagaaccacatgagaaaggaggattcgggctctgagcagttt  caccaccacccccagctctgcaaactctgaccctgggtccacctgccccaaagcgga  cgcaggacagtagaagggaacagagaacacataaacacagagagggccacagcggctccc  acagtcaccgccacttctggcggggatgggtggggcgtctgagtttggttcccagcaa  atccctctgagccgcccttgcgggctcgcctcaggagcaggggagcaagaggtgggagga  ggaggtctaagtcccagggccaattaagagatcaggtagtgtagggttgggagcttita  aggtgaagaggcccgggctgatcccacaggccagtataaagcgccgtgaccctcaggtga  tgcgccagggccggctgccgtcggggacagggcttccatagcc</p>
<p>Человеческий родопсин (Rho) (фоторецептор- специфическая)  SEQ ID NO:213</p>	<p>Agatcttccc a ctagccacc tggcaactg ctcttctct caaaggcca aacatggcct  cccagactgc aacccccagg cagtcaggcc ctgtctccac aacctcacag ccaccctgga  cggaatctgc ttctccac atttgagtc tctcagccc ctgagctct ctgggcaggg ctgtttctt  ccatcttgt</p> <p>attcccaggg gcctgcaaat aatgtttaa tgaacgaaca agagagtga ttccaattcc  atgcaacaag gattgggctc ctgggccta ggctatgtgt ctggcaccag aaacggaagc  tgcaggttgc agcccctgcc ctcatggagc tctcctgtc agaggagtgt ggggactgga  tgactccaga ggtaactgt gggggaacga acaggtagg ggctgtgtga cgagatgaga  gactgggaga ataaaccaga aagtctctag ctgtccagag gacatagcac agaggcccat  ggtcctatt tcaaaccag gccaccagac tgagctggga cttgggaca gacaagtcac  gcagaagta ggggacctc tctccctt tctggatg atcctgagta cttctcctc cctgacctca  ggcttctcc tagtgtacc ttggcccctc ttagaagcca attaggcct cagtttctgc agcggggatt  aatatgatta tgaacacccc caatctcca gatgctgatt cagccaggag cttaggaggg  ggaggtcact ttataagggt ctgggggggt cagaaccag  agtc</p> <p>(начало экзона 1 с 5339; см. также Bennett,J., Sun,D. and Kariko,K.  Sequence analysis of the 5.34-kb 5' flanking region of the human rhodopsin-  encoding gene. Gene 167 (1-2), 317-320 (1995))</p>
<p>Промотор аррестина</p>	<p>TGGCCCTGGCATTCCCCTATACTGGGACATAGAACCTTCACAGG  ACCAAGGGCCTCTCCTCCCATTGATGACTGACTAGGCCATCCTC</p>

<p>колбочек мыши (CAR) <i>(фоторецептор</i> - <i>специфическая)</i></p> <p>SEQ ID NO:214</p>	<p>TAGCTACATAGGTGGTGGAGCCTAGAGTCCCTCCTTGTGTA CTC TTTGGTGGTGGT TACTCTGGGGG TACTAGGTTAGTTCGTATTGTT GTTCCCTCCTAGGGGACTGCAAACCCCTTCAGCTCCTTGGGTCCTT TCTCTAGTTCCTTCTTTGGGGACCCTGTGCTCAGTTCAATGGATG GCCAATTTCCCTTCTTAAATGCCCTAGCAGTAACTGTTAGGTCTC AATCCCAAGACAAATGTCTGAGGTGCCTATTTAACAGATCAAAG CGGACCTGTCTCAGGTTAACCAGTCACTCCCTGTACCTCAGT CCCTACCCATCACAAATCTCCAGCCATGAGCTTCGGGCTGTAC TCCCCAACGGGTTCTCCATTTTGGGTACATGGCCTTTTTTTTTTT ACCTTTTTGGTTCCTTTGGCCTTTTGGCTTTTGGCTTCCAGGGCTT CTGGATCCCCCCCCAACCCTCCCATACACA TACACATGTGCACTCGTGCACTCAACCCAGCACAGGATAATGTT CATTCTTGACCTTTCCACATACATCTGGCTATGTTCTCTCTCTTAT CTACAATAAATCTCCTCCACTATACTTAGGAGCAGTTATGTTCTT CTTCTTTCTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCATTCAGTAACATCATCAG AATCCCCTAGCTCTGGCCTACCTCCTCAGTAACAATCAGCTGAT CCCTGGCCACTAATCTGTA CTACTACTAATCTGTTTTCCAACT CTTGGCCCCTGAGCTAATTATAGCAGTGCTTCATGCCACCCA CCCCAACCCCTATCCTTGTTCTCTGACTCCC ACTAATCTACAC ATTCAGAGGATTGTGGATATAAGAGGCTGGGAGGCCAGCTT AGCAACCAGAGCTCGAGGCTGATGCGAGCTTCATCTCTTCC CTC</p>
<p>Промотор аррестина колбочек мыши (CAR) <i>(фоторецептор</i> - <i>специфическая)</i></p> <p>SEQ ID NO:215</p>	<p>TTTTTTTTTTACCTTTTTGGTTCCTTTGGCCTTTTGGCTTTTGGCTT CCAGGGCTTCTGGATCCCCCCCCAACCCTCCCATACACATACAC ATGTGCACTCGTGCACTCAACCCAGCACAGGATA ATGTTCAATTCTTGACCTTTCCACATACATCTGGCTATGTTCTCTC TCTTATCTACAATAAATCTCCTCCACTATACTTAGGAGCAGTTAT GTTCTTCTTCTTTCTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCATTCAGTAACAT CATCAGAATCCCCTAGCTCTGGCCTACCTCCTCAGTAACAATCA GCTGATCCCTGGCCACTAATCTGTA CTACTACTAATCTGTTTTC CAA ACTCTTGGCCCCTGAGCTAATTATAGCAGTGCTTCATGC CACCCACCCCAACCCTATCCTTGTTCTCTGACTCCC ACTAAT CTACACATTCAGAGGATTGTGGATATAAGAGGCTGGGAGGC CAGCTTAGCAACCAGAGCTCGAGGCTGATGCGAGCTTCATC TCTTCCCTC</p>

<p>Промотор аррестина колбочек мыши (CAR) <i>(фоторецептор</i> - <i>специфическая)</i> SEQ ID NO:216</p>	<p>TGATCCCTGGCCACTAATCTGTA CTCACTAATCTGTTTTCCA AACTCTTGGCCCCTGAGCTAATT ATAGCAGTGCTTCATGCCA CCCACCCCAACCCTATCCTTGTT CTCTGACTCCCACCTAATCT ACACATTCAGAGGATTGTGGATA TAAGAGGCTGGGAGGCCA GCTTAGCAACCAGAGCTCGAGGCT GATGCGAGCTTCATCTC TTCCCTC</p>
<p>Человеческая родопсинкиназа (RK) или GRK1 <i>(фоторецептор</i> - <i>специфическая)</i> SEQ ID NO:217</p>	<p>gggcccc gaagcctggt ggttgttgt ccttctcagg ggaaaagtga ggcggcccct tggaggaagg ggccgggcag aatgatctaa tcggattcca agcagctcag gggattgtct ttttctagca ccttcttgc actcctaagc gtcctccgtg accccggctg ggatttagcc tggctgtgtg tcagccccgg</p>
<p>Промотор человеческого бестрофина 1 (BEST1) <i>(также</i> <i>известный как</i> <i>промотор</i> <i>hVMD2)</i> SEQ ID NO:218</p>	<p>AAGG ACTCCTTTGT GGAGGTCCTG GCTTAGGGAG TCAAGTGACG GCGGCTCAGC ACTCACGTGG GCAGTGCCAG CCTCTAAGAG TGGGCAGGGG CACTGGCCAC <u>AGAGTCCCAG</u> GGAGTCCCAC CAGCCTAGTC GCCAGACC +38</p>
<p>Промотор человеческого бестрофина 1 (BEST1) <i>(также</i> <i>известный как</i> <i>промотор</i> <i>hVMD2)</i> SEQ ID NO:219</p>	<p>GTCAAGTGACG GCGGCTCAGC ACTCACGTGG GCAGTGCCAG CCTCTAAGAG TGGGCAGGGG CACTGGCCAC <u>AGAGTCCCAG</u> GGAGTCCCAC CAGCCTAGTC GCCAGACC  (остаток сайта начала транскрипции подчеркнут при +1)</p>
<p>Промотор</p>	<p>CTCAGC ACTCACGTGG GCAGTGCCAG CCTCTAAGAG</p>

<p>человеческого бестрофина 1 (BEST1) <i>(также известный как промотор hVMD2)</i> SEQ ID NO:220</p>	<p>TGGGCAGGGG CACTGGCCAC <u>A</u>GAGTCCCAG GGAGTCCCAC CAGCCTAGTC GCCAGAC (остаток сайта начала транскрипции подчеркнут при +1)</p>
<p>Промотор человеческого бестрофина 1 (BEST1) <i>(также известный как промотор hVMD2)</i> SEQ ID NO:221</p>	<p>ТТААТАААСА ТТТGGGCGAT TCTTACGGCC TCTAAAGACC AAGAACCACT GCTGCCTAGA GCTCTGCTCT CTTCATTGAA СААТАСААГА GGAGTGTGTA GGTAGACACC CACCACTTCC AACAGCTTAG GAGAGCCCTT GAGTATGGAT TGATGTATTA AAATTTATTG AATCACATGC TGAGATTTTC ACCAGCTGCC CGTGGGGATC TGGGCATTTA TTCCCATATT GCACTGGCTG GCTGGAAGCC AGCAGCATAA ACTCCAGGGC TGTTCTGTCA ACCCCCACCA GACTCACCCC GCTCCACCAG CCCCGGCAGG CTTCTCCTTC CATCTCTCTG AAGCAACTTA CTGATGGGCC CTGCCAGCCA ATCACAGCCA GAATAACGTA TGATGTCACC AGCAGCCAAT CAGAGCTCCT CGTCAGCATA TGCAGAATTC TGTCATTTTA CTAGGGTGAT GAAATTCCCA AGCAACACCA TCCTTTTCAGATAAGGGCAC TGAGGCTGAG AGAGGAGCTG AAACCTACCC GGCCTCACCA CACACAGGTG GCAAGGCTGG GACCAGAAAC CAGGACTGTT GACTGCAGCC CGGTATTCAT TCTTTCCATA GCCCACAGGG CTGTCAAAGA CCCCAGGGCC TAGTCAGAGG CTCCTCCTTC CTGGAGAGTT CCTGGCACAG AAGTTGAAGC TCAGCACAGC CCCCTAACCC CCAACTCTCT CTGCAAGGCC TCAGGGGTCA GAACACTGGT GGAGCAGATC CTTTAGCCTC TGGATTTTAG GGCCATGGTA GAGGGGGTGT TGCCCTAAAT TCCAGCCCTG GTCTCAGCCC AACACCCTCC AAGAAGAAAT TAGAGGGGCC ATGGCCAGGC TGTGCTAGCC GTTGCTTCTG AGCAGATTAC AAGAAGGGAC CAAGACAAGG ACTCCTTTGT GGAGGTCCTG GCTTAGGGAG TCAAGTGACG GCGGCTCAGC ACTCACGTGG</p>

	<p><b>GCAGTGCCAG CCTCTAAGAG TGGGCAGGGG CACTGGCCAC</b>  <b><u>AGAGTCCCAG</u> GGAGTCCCAC CAGCCTAGTC GCCAGACCTT</b>  <b>CTGTGGGATC ATCGGACCCA</b></p> <p>(остаток сайта начала транскрипции подчеркнут при +1; область минимального активного промотора выделена жирным шрифтом)</p>
<p>Промотор GRK1 SEQ ID NO:77</p>	<p>GGGCCCCAGAAGCCTGGTGGTTGTTTGTCTTCTCAGGGGAAA  GTGAGGCGGCCCTTGGAGGAAGGGGCCGGGCAGAATGATCTA  ATCGGATTCCAAGCAGCTCAGGGGATTGTCTTTTTCTAGCACCTT  CTTGCCACTCCTAAGCGTCCTCCGTGACCCCGGCTGGGATTTAGC  CTGGTGCTGTGTCAGCCCCGGGCTCCAGGGGCTTCCCAGTGGT  CCCCAGGAACCCTCGACAGGGCCAGGGCGTCTCTCTCGTCCAGC  AAGGGCAGGGACGGGCCACAGGCCAAGGGC</p>
<p>Тандемный промотор Best/GRK1 SEQ ID NO: 275</p>	<p>GTCGACAAATTCTGTCATTTACTAGGGTGATGAAATCCCAAGC  AACACCATCCTTTTCAGATAAGGGCACTGAGGCTGAGAGAGGAG  CTGAAACCTACCCGGGGTCACCACACACAGGTGGCAAGGCTGG  GACCAGAAACCAGGACTGTTGACTGCAGCCCGGTATTCAATCTTT  CCATAGCCCACAGGGCTGTCAAAGACCCAGGGCCTAGTCAGAG  GCTCCTCCTCCTGGAGAGTTCCTGGCACAGAAGTTGAAGCTCA  GCACAGCCCCCTAACCCCAACTCTCTCTGCAAGGCCTCAGGGG  TCAGAACACTGGTGGAGCAGATCCTTTAGCCTCTGGATTTTAGGG  CCATGGTAGAGGGGGTGTGCCCTAAATCCAGCCCTGGTCTCA  GCCCAACACCCTCCAAGAAGAAATTAGAGGGGCCATGGCCAGG  CTGTGCTAGCCGTTGCTTCTGAGCAGATTACAAGAAGGGACTAA  GACAAGGACTCCTTTGTGGAGGTCCTGGCTTAGGGAGTCAAGTG  ACGGCGGCTCAGCACTCACGTGGGCAGTGCCAGCCTCTAAGAGT  GGGCAGGGGCACTGGCCACAGAGTCCCAGGGAGTCCCACCAGC  CTAGTCGCCAGAtCTAGAGGGCCCCAGAAGCCTGGTGGTTGTTG  TCCTTCTCAGGGGAAAAGTGAGGGCGGCCCTTGGAGGAAGGGG  CCGGGCAGAAGATCTAATCGGATTCCAAGCAGCTCAGGGGATTG  TCTTTTTCTAGCACCTTCTTGCCACTCCTAAGCGTCCTCCGTGAC  CCCGGCTGGGATTTAGCCTGGTGCTGTGTCAGCCCCGGGCTCCC  AGGGGCTTCCCAGTGGTCCCCAGGAACCCTCGACAGGGCCAGG  GCGTCTCTCTCGTCCAGCAAGGGCAGGGACGGGCCACAGGCCA  AGGGCCTTAAGC</p>

Расположенная выше последовательность Козак	GCCACC
Поли(А)-область бета-глобина кролика SEQ ID NO:78	gatcttttccctctgccaataattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaataaag gaaattattttcattgcaatagtgtgttgaatttttgtgtctctcactcg
Химерный интрон SEQ ID NO:79	gtaagtatcaagggttacaagacaggttaaggagaccaatagaaactgggcttctcgagacagagaagac tcttgcgttctgataggacctattggtcttactgacatccactttgccttctctccacag
Интрон VH4 SEQ ID NO:80	gtgagtatctcagggatccagacatggggatatgggaggtgcctctgatcccagggtcactgtgggtctc tctgttcacag
Интрон SV40 SEQ ID NO:272 84	gtaagtttagtcttttgtctttatttcaggtcccggatccgggtggtgcaaataaagaactgctcctcagt ggatgttgccttacttctag
5' ITR SEQ ID NO:81	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgccgggcaaagcccgggctcgggcgacctttggtcgccc ggcctcagtgagcgagcgagcgcgagaggggagtgccaactccatcactaggggttct
5' -ITR  (Удалена D-последовательность для самокомплементарного AAV) SEQ ID NO:82	ctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgccgggcaaagcccgggctcgggcgacctttggtcgccc ggcctcagtgagcgagcgagcgcgagaggggagtg
3' -ITR AAV SEQ ID NO:83	gaacccttagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgccgggcaa agcccgggctcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgagaggggagtg ggccea
3' -ITR  (Удалена D-последовательность для самокомплементарного AAV) SEQ ID NO:84	ttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggctcgcccagccccg ggctttgcccgggctcagtgagcgagcgagcgcgag

<p>ость для самокомплемен тарного AAV) SEQ ID NO:84</p>	
---	--

**Таблица 1а.** Другие регуляторные последовательности

<p>LSPX1 SEQ ID NO:228</p>	<p>aggtaatttttaaaaagcagtc metaaggccaagtgccctggcagcattfactctctctgtttgctctggta ataatctcaggagcacaacattccagatccaggtaatttttaaaaagcagtc metaaggccaagtgccctt ggcagcattfactctctctgtttgctctggtaataatctcaggagcacaacattccagatccggcgcgcca gggctggaagctaccttctagaaggctcagaggcacacaggagttctgggctcacctgcccccttc caaccctcagttcccatcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtcacactgaacaaactcagc ctactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacagccctccctgctgct gacctggagctggggcagaggtcagagacctctctgggccatgccacctcaacatccactcgacct cttggaaattcggtggagaggagcagaggtgtcctggcgtggttaggtagtgtgagaggggtacctgg ggatcttgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtgtact ctcccagagactgtctgactcacgccacccccctcacctggacacaggacgtgtggttctgagccagg tacaatgactccttcggttaagtgcagtggaaagctgtacactgccaggcaaacgctccgggcagcgtag gcgggcgactcagatcccagccagtgacttagcccctgtttgctcctccgataactggggtgacctgggt aatattcaccagcagcctccccgtggccctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccct gtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt</p>
<p>LSXP2 SEQ ID NO:229</p>	<p>aggctcagaggcacacaggagttctgggctcacctgccccctcaaccctcagttccatcctccag cagctgtttgtgtgctgctctgaagtccacactgaacaaactcagcctactcatgtccctaaaatgggcaa acattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgctgacctggagctggggcagaggt cagagacctctctgggccatgccacctcaacatccactcgaccttggaaattcggtggagaggagc agaggtgtcctggcgtggttaggtagtgtgagaggggtctagaaggctcagaggcacacaggagttctg ggctcacctgccccctcaaccctcagttccatcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtc acactgaacaaactcagcctactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaac cacagccctccctgctgctgacctggagctggggcagaggtcagagacctctctgggccatgccac ctcaacatccactcgaccttggaaattcggtggagaggagcagaggtgtcctggcgtggttaggta gtgtgagaggggtacctggggtctgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcag aggccagctaagtgtactctcccagagactgtctgactcacgccacccccctcacctggacacagga cgctgtggttctgagccaggtacaatgactccttcggttaagtgcagtggaaagctgtacactgccaggca aacgctccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtgacttagccccctgtttgctcctccg ataactggggtgaccttggtaataattcaccagcagcctccccgtggccctctggatccactgcttaata cggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt</p>

<p>LTP1 SEQ ID NO:230</p>	<p>aggtaatttttaaaaagcagtcataaaagccaagtggcccttggcagcattfactctctctgtttgctctggta  ataatctcaggagcacaacattccagatccaggtaatttttaaaaagcagtcataaaagccaagtggccctt  ggcagcattfactctctctgtttgctctggtaataatctcaggagcacaacattccagatccggcgcgcca  gggctggaagctaccttgacatcattcctctcgcaatgcatgtataattctacagaacctattagaagga  tcaccagcctctgctttgtacaacttcccttaaaaaactgccaattccactgctgtttggcccaatagtgag  aacttttctctgctgcctcttggctttgcctatggcccctattctgctgctgaagacactcttgccagcatg  gactaaaccctccagctctgacaatccttttctttgtttacatgaagggtctggcagccaaagcaatc  actcaaagttcaaaccttatcattttgctttgtcctcttggccttggttttgacatcagctttgaaaataccatc  ccagggttaatgctggggtaattataactaagagtgcctctagtttgcaatacaggacatgctataaaaatg  gaaagatgttgctttctgagaggatcttctaccagtggaaacagccactaaggattctgcagtgagagcag  agggccagctaagtggctactctccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttggacacagga  cgctgtggtttctgagccaggtacagtgactccttcggttaagtgcagtggaaagctgtacactgcccaggc  aaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggactagcccctgtttgctcctcc  gataactggggtgaccttggtaataatcaccagcagcctccccgttggccctctggatccactgcttaaat  acggacgaggacaggccctgtctcctcagctcaggcaccaccactgacctgggacagt</p>
<p>LTP2 SEQ ID NO:231</p>	<p>aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaacccctcagttccatcctccag  cagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaactcagcctactcatgtccctaaaatgggcaa  acattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctcctgctgctgacctggagctggggcagagggt  cagagacctctctggcccatgccacctccaacatccactgaccccttggaaattcggaggagaggagc  agagggttgcctggcgtggttaggtagtgtgagagggtctagagcccttaagctagcaggtaattttaaa  aagcagtcataaaagccaagtggcccttggcagcattfactctctctgtttgctctggttaataatctcaggagc  acaaacattccagatccaggtaatttttaaaaagcagtcataaaagccaagtggcccttggcagcattfactc  tctctgtttgctctggttaataatctcaggagcacaacattccagatccggcgcgcccagggtggaagcta  ccttgacatcattcctctcgcaatgcatgtataattctacagaacctattagaaggatcaccagcctctg  ctttgtacaacttcccttaaaaaactgccaattccactgctgtttggcccaatagtgagaacttttctgctg  cctcttggctgtttgcctatggcccctattctgctgctgaagacactcttgccagcatggacttaaacccct  ccagctctgacaatccttttctttgtttacatgaagggtctggcagccaaagcaatcactcaaagtcaa  accttatcatttttgccttcttcttggccttggttttgacatcagctttgaaaataccatcccagggttaatg  ctggggtaattataactaagagtgcctctagtttgcaatacaggacatgctataaaaatggaagatgttgc  tttctgagaggatcttctaccagtggaaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagcta  agtggctactctccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttggacacaggacgctgtggtttct  gagccaggtacagtgactccttcggttaagtgcagtggaaagctgtacactgcccaggcaaacgctccgg  gcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctgtttgctcctccgataactgggg  tgaccttggtaataatcaccagcagcctccccgttggccctctggatccactgcttaatacggacgagg</p>

	acagggcctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
LTP3 SEQ ID NO:232	<p>aggtaatttttaaaaagcagtcAAAAGTCCAAGTGGCCCTGGCAGCATTFACTCTCTCTGTTGCTCTGGTAA  ataatctcaggagcacaAACATTCCAGATCCAGGTAATTTTAAAAGCAGTCAAAGTCCAAGTGGCCCT  ggcagcattfactctctctgtttgctctggtaataatctcaggagcacaAACATTCCAGATCCGGCGCGCCA  gggctggaagctaccttgacatcattcctctgcgaatgcatgtataattctacagaacctattagaagga  tcaccagcctctgctttgtacaacttcccttaaaaaactgccaattccactgctgtttggccaatagtgag  aacttttctctgctgcctcttggctttgctatggcccctattctgctgctgaagacactcttgccagcatg  gactaaaccctccagctctgacaatccttttctttgtttacatgaagggtctggcagccaaagcaatc  actcaaagttcaaaccttatcattttgctttgtcctcttggccttggttttgacatcagctttgaaaataccatc  ccagggtaatgctggggtaattataactaagagtgctctagtttgcaatacaggacatgctataaaaatg  gaaagatgttgctttctgagaggatctgctaccagtggAACAGCCACTAAGGATTCTGCAGTGAGAGCAG  agggccagctaagtggactctccagagactgtctgactcacgccacccctccacttggacacagga  cgctgtggtttctgagccaggtacagtgactccttcggtaagtgcagtggaaagctgtacactgcccaggc  aaagcgtccgggacgctaggcgggcgactcagatccagccagtgacttagcccctgtttgctcctcc  gataactggggtgacctggtaataattaccagcagcctccccgttcccctctggatccactgcttaaat  acggacgaggacagggcctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagtaaaacaggt  aagtccgctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaactcagcctactcatgtccctaaaatgg  gcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgaccttggagctggggcag  aggtcagagacctctggccttactaaccatgttcatgtttcttttttctacaggtcctgggtgacgaac  ag</p>
LMTP6 SEQ ID NO:233	<p>aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaaccctcagttccatcctccag  cagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaactcagcctactcatgtccctaaaatgggcaa  acattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgctgaccttggagctggggcagagggt  cagagacctctctggcccatgccacctccaacatccactgaccccttggaaattcgggtggagaggagc  agaggttgctctggcgtggtttaggtagtgtgagagggccactacgggttaggctgccatgtaaggagg  caaggcctggggacaccgagatgctggttataaattaaccagacatgtggctgccccccccccccca  acacctgctgcctctaaaataaccctgtccctggtggatccactacgggttaggctgccatgtaagga  ggcaaggcctggggacaccgagatgctggttataaattaaccagacatgtggctgcccccccccccc  ccaacacctgctgcctctaaaataaccctgtccctggtggatccactacgggttaggctgccatgtaa  ggaggcaaggcctggggacaccgagatgctggttataaattaaccagacatgtggctgcccccccccc  cccccaacctgctgcctctaaaataaccctgtccctggtggatccctgcatgcgaagatcttgaaca  aggctgtggggactgagggcaggctgtaacaggcttggggccagggttatacgtgcctgggactcc  caagttactgttccatgttccggcgaaggccagctgtccccgccagctagactcagcacttagttt  aggaaccagtgaagcaagtcagcccttggggcagccatacaaggccatggggctgggcaagctgcac  gcctgggtccgggtgggcacggtgcccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcaggggccct</p>

	<p>ccctggggacagcccctctggctagtacacacctgtaggctcctctatataaccaggggcacaggggc  tgcctcattctaccaccactccacagcacagacagacactcaggagccagccagcgtcgagatcttgc  taccagtggaaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtggactctccaga  gactgtctgactcacgccaccccctccacttggacacaggacgctgtggtttctgagccaggtacagtga  ctcctttcggtaagtgcagtggaaagctgtacactgcccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcggggc  actcagatcccagccagtgacttagcccctgttctcctccgataactggggtgacctggtaaatattca  ccagcagcctccccgttggccctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccctgtctcctc  agcttcaggcaccaccactgacctgggacagt</p>
<p>LMTP13  SEQ ID NO:234</p>	<p>aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacccctgccccctccaaccctcagttccatcctccag  cagctgtttgtgtctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtccctaaaatgggcaa  acattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgctgaccttggagctggggcagaggt  cagagacctctctgggccatgccacctcaacatccactgaccccttggaaattcggtgaggagaggagc  agaggtgtcctggcgtggttaggtagtgtgagaggggtaccgggggatcttctaccagtctagagcc  gtccgccctcggcaccatcctcacgacacccaatatggcgacgggtgaggaatggtggggagttatfff  agagcggtgaggaaggtgggcaggcagcaggtgtggcgtctaaaaataactccgggagttatffta  gagcgggaggaatggtggacacccaatatggcgacggttctcaccctcgcctatffgggtgtccgcc  ctcggccggggccgacttctgggggcccggcggtgtcccggccctcgataaaaggctccgggg  ccggcggcggcccacgagctaccggaggagcgggagggcgcaagcgtgagtatcgatcttctacc  agtggaaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtggactctccagagact  gtctgactcacgccaccccctccacttggacacaggacgctgtggtttctgagccaggtacagtactcc  ttcggtaagtgcagtggaaagctgtacactgcccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcggggcactc  agatcccagccagtgacttagcccctgttctcctccgataactggggtgacctggtaaatattccaccg  cagcctccccgttggccctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagct  tcaggcaccaccactgacctgggacagt</p>
<p>LMTP14  SEQ ID NO:235</p>	<p>gaatggtggacacccaatatggcgacggttctcaccctcgcctatffgggtgtccgccctcggccg  gggccgacttctgggggcccggcggtgtcccggccctcgataaaaggctccggggcccggcggc  ggcccacgagctaccggaggagcgggaggcgccaagcgtatcttaccagtggaaacagccactaa  ggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtggactctccagagactgtctgactcacgccacc  cctccacttggacacaggacgctgtggtttctgagccaggtacagtactccttcggtaagtgcagtgg  agctgtacactgccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcggggcactcagatcccagccagtgga  ttagcccctgttctcctccgataactggggtgacctggtaaatattccaccagcagcctccccgttccc  ctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgac  ctgggacagt</p>
<p>LMTP15  SEQ ID NO:236</p>	<p>aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacccctgccccctccaaccctcagttccatcctccag  cagctgtttgtgtctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtccctaaaatgggcaa</p>

	<p>acattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgctgacctggagctggggcagaggt  cagagacctctctgggccatgccacctccaacatccactcgaccccttgaatttcggtggagaggagc  agaggttgcctggcgtggttaggtagtgtagaggggtctagagaatggtggacaccaaatatggcga  cggttcctcacccgctgccatattgggtgtccgcccctggccggggccgacattcctgggggcccggcg  gtgctcccggcccctcgataaaaggctccggggccggcgggccacagctacctccggaggagcg  ggaggcgccaagcgatcttctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggcc  agctaagtggactctcccagagactgtctgactcacgcccccctccaccttggacacaggacgctgtg  gtttctgagccaggtacagtgactccttcgtaagtgcagtggaagctgtacactgccaggcaaacgt  ccgggcagcgtaggcggcgactcagatcccagccagtggacttagcccctgtttgctcctccgataact  ggggtgaccttggtaataattaccagcagcctccccgtgccctctggatccactgcttaatacggac  gaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt</p>
<p>LMTP18  SEQ ID NO:237</p>	<p>aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaaccctcagttccatcctccag  cagctgtttgtgtgctgctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtccctaaaatgggcaa  acattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgctgacctggagctggggcagaggt  cagagacctctctgggccatgccacctccaacatccactcgaccccttgaatttcggtggagaggagc  agaggttgcctggcgtggttaggtagtgtagagggccactacgggttaggtgccatgtaaggagg  caaggcctggggacaccgagatgctgggtataattaaccagacatgtggctgccccccccccca  acacctgctgctctaaaataaccctgtccctgggtggatcccctgcatgcaagatcttgaacaaggctg  tgggggactgagggcaggctgtaacaggcttgggggcccagggttatacgtgctgggactccaaagt  attactgttccatgttccggcgaagggccagctgtccccgccagctagactcagcacttagtttagaac  cagtgagcaagtcagcccttggggcagcccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgcctggg  tccggggtgggcacgggtccccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcaggggcccctccctggg  gacagcccctcctggctagtcacacctgtaggctcctctataataaccaggggcagaggggctgccctc  attctaccaccacctccacagcacagacagactcaggagccagccagcgtcgagatcttctaccagt  ggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtgttactctcccagagactgtct  gactcacgccaccctccaccttggacacaggacgctgtggtttctgaccaggtacagtgactccttc  ggttaagtgcagtggaagctgtacactgccaggcaaacgctccgggcagcgtaggcggcgactcaga  tcccagccagtggacttagcccctgtttgctcctccgataactggggtgaccttggtaataattaccagcag  cctccccgtgccctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttca  ggcaccaccactgacctgggacagt</p>
<p>LMTP19  SEQ ID NO:238</p>	<p>aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaaccctcagttccatcctccag  cagctgtttgtgtgctgctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtccctaaaatgggcaa  acattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgctgacctggagctggggcagaggt  cagagacctctctgggccatgccacctccaacatccactcgaccccttgaatttcggtggagaggagc  agaggttgcctggcgtggttaggtagtgtagagggccctgcatgcaagatcttgaacaaggctgtg</p>

	<p>ggggactgagggcaggctgtaacaggcttggggccagggttatactgcctgggactccaaagtat  tactgttccatgttccccggaaggccagctgtccccgccagctagactcagcacttagttaggaacc  agtgagcaagtcagcccttggggcagccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgcctgggt  ccgggtgggacaggtgccccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcagggggccccctccctgggg  acagcccctcctggctagtacacacctgtaggctcctctatataaccaggggcacaggggctgcctcat  tctaccaccacctccacagcacagacagacactcaggagccagccagcgtcgagatcttctaccagt  gaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtgttactctccagagactgtctg  actcagccacccccctccaccttgacacaggacgctgtggttctgagccaggtacagtactccttgc  gtaagtgcagtggaagctgtacactgccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggagactcagat  cccagccagtggacttagcccctgttctcctccgataactggggtagccttggttaataaccagcag  cctccccgttggcctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttca  ggcaccaccactgacctgggacagt</p>
<p>LMTP20  SEQ ID NO:239</p>	<p>aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaaccctcagttccatcctccag  cagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtccctaaaatgggcaa  acattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctcctgctgctgacctggagctggggcagaggt  cagagacctcttgggcccattgccacctcaacatccactcgaccccttgaattctggaggagaggc  agaggttctcctggcgtggttaggtagtgtgagagggccctcagattaaaataactgaggttaaggcc  tgggtaggggaggtggtgtgagacgctcctgtctctcctctatctgccatcggcccttggggaggagga  atgtgccaaggactaaaaaaggccatggagccagagggcgagggcaacagaccttcatgggcaa  accttggggccctgctgaagcttggcccactacgggttaggctgccatgtaaggaggcaaggcctgg  ggacaccgagatgctggtataattaaccagacatgtggctgcccccccccccccaacacctgctg  cctctaaaataaacctgtccctggtggatcccctgcatgcgaagatcttgaacaaggctgtggggact  gagggcaggtgtaacaggcttggggccagggttatactgctgggactccaaagtattactgttc  catgttccccggaaggccagctgtccccgccagctagactcagcacttagttaggaaccagtgagc  aagtcagcccttggggcagccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgcctgggtccgggt  gggacaggtgccccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcagggggccccctccctggggacagccc  ctcctggctagtacacacctgtaggctcctctatataaccaggggcacaggggctgcctcattctaccac  cacctccacagcacagacagacactcaggagccagccagcgtcgagatcttctaccagtggaacagc  cactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtgttactctccagagactgtctgactcagc  ccacccccctccaccttgacacaggacgctgtggttctgagccaggtacagtactccttccgtaagtgc  agtggaagctgtacactgccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggagactcagatcccagcca  gtggacttagcccctgttctcctccgataactggggtagccttggttaataaccagcagcctccccg  ttggcctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagctttaggcaccacc  actgacctgggacagt</p>
ApoE.hAAT	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaaccctcagttccatcctccag

SEQ ID NO:240	<p>cagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtccctaaaatgggcaa  acattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgctgaccttgagctggggcagaggt  cagagacctctctgggccatgccacctccaacatccactcgacccttgaatttcggtggagaggagc  agaggtgtcctggcgtggttaggtagtgtgagaggggtaccgggatcttctaccagtggaaacagc  cactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtggfactctcccagagactgtctgactcacg  ccacccctccacctggacacaggacgctgtggttctgagccaggtacaatgactccttcggtaagtgc  agtggaagctgtactgcccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagcca  gtggacttagccccgtttgctcctccgataactggggtgaccttggttaattaccagcagcctccccg  ttgccctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccacc  actgacctgggacagt</p>
Энхансер альфа-Mic/Bik (Mic/BikE)  SEQ ID NO:241	<p>aggtaatttttaaaaagcagtcataaagtcgaagtggccctggcagcattfactctctctgtttgctctggta  ataatctcaggagcacaacattcc</p>
Тандемные энхансеры (2) альфа-Mic/Bik (2 Mic/BikE) SEQ ID NO:242	<p>aggtaatttttaaaaagcagtcataaagtcgaagtggccctggcagcattfactctctctgtttgctctggta  ataatctcaggagcacaacattccaggttaatttttaaaaagcagtcataaagtcgaagtggccctggcag  cattfactctctctgtttgctctggtaataatctcaggagcacaacattcc</p>
Печеночная контролирующа я область ApoE, содержащая энхансер ApoE  SEQ ID NO:243	<p>aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaaccctcagttccatcctccag  cagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtccctaaaatgggcaa  acattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgctgaccttgagctggggcagaggt  cagagacctctctgggccatgccacctccaacatccactcgacccttgaatttcggtggagaggagc  agaggtgtcctggcgtggttaggtagtgtgagaggg</p>
Тандемные энхансеры APOE (2) SEQ ID NO:244	<p>aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaaccctcagttccatcctccag  cagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtccctaaaatgggcaa  acattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgctgaccttgagctggggcagaggt  cagagacctctctgggccatgccacctccaacatccactcgacccttgaatttcggtggagaggagc  agaggtgtcctggcgtggttaggtagtgtgagagggctagaaggctcagaggcacacaggagtttctg  ggctcacctgccccctccaaccctcagttccatcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtcc  aactgaacaaacttcagcctactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaca  cacagccctccctgctgctgaccttgagctggggcagaggtcagagacctctctg</p>

Промотор hAAT SEQ ID NO:245	gatcttgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtgggtactc tcccagagactgtctgactcacgccacccccctccacctggacacaggacgctgtggtttctgagccaggt acaatgactcctttcgtaagtgcagtggaagctgtacactgccaggcaaaagcgtccgggcagcgtagg cgggcgactcagatcccagccagtggacttagccccctgtttgctcctccgataactgggggtgacctgggta atattcaccagcagcctccccgttggccctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccctg tctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
Промотор hAAT( <u>ΔATG</u> ) SEQ ID NO:246	gatcttgctaccagtggaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggccagctaagtgggtactc tcccagagactgtctgactcacgccacccccctccacctggacacaggacgctgtggtttctgagccaggt acagtgactcctttcgtaagtgcagtggaagctgtacactgccaggcaaaagcgtccgggcagcgtagg gcgggcgactcagatcccagccagtggacttagccccctgtttgctcctccgataactgggggtgacctgggt aatattcaccagcagcctccccgttggccctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccct gtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
Энхансер Mck (MckE) SEQ ID NO:247	ccactacgggttaggctgccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttataatt aaccagacatgtggctgcccccccccccccaacacctgctgcctctaaaaataaccctgtccctggtg gatc
Тандемные энхансеры Mck (2) (2 MckE) SEQ ID NO:248	ccactacgggttaggctgccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttataatt aaccagacatgtggctgcccccccccccccaacacctgctgcctctaaaaataaccctgtccctggtg gatccactacgggttaggctgccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttat aattaaccagacatgtggctgcccccccccccccaacacctgctgcctctaaaaataaccctgtccctg gtggatc
Тандемные энхансеры Mck (3) (3 MckE) SEQ ID NO:249	ccactacgggttaggctgccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttataatt aaccagacatgtggctgcccccccccccccaacacctgctgcctctaaaaataaccctgtccctggtg gatccactacgggttaggctgccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttat aattaaccagacatgtggctgcccccccccccccaacacctgctgcctctaaaaataaccctgtccctg gtggatccactacgggttaggctgccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctgg ttataattaaccagacatgtggctgcccccccccccccaacacctgctgcctctaaaaataaccctgtcc ctgggtgatc
Энхансер тяжелой цепи миозина (MhcE)  SEQ ID NO:250	cccttcagattaaaaataactgaggttaaggcctgggtaggggaggtggtgtgagacgctcctgtctctcc tctatctgccatcggccctttggggaggaggaatgtgcccaaggactaaaaaaggccatggagccag aggggcgagggcaacagaccttcatgggcaaaccttggggccctgctgaagctttggc

[0080] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат один или более регуляторных элементов,

отличных от промотора. В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат энхансер. В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат репрессор. В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат интрон (например, интрон VH4 (SEQ ID NO:80), интрон SV40 (SEQ ID NO:272) или химерный интрон (интрон  $\beta$ -глобина/Ig) (SEQ ID NO:79). Вирусные векторы могут также включать последовательность Козак для стимуляции трансляции продукта трансгена, например, GCCACC.

[0081] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат последовательность полиаденилирования ниже кодирующей области трансгена. Любой поли(A)-сайт, который сигнализирует об окончании транскрипции и направляет синтез поли(A)-хвоста, подходит для использования в векторах AAV по настоящему изобретению. Иллюстративные поли(A)-сигналы получены из следующих, но не ограничиваются им: позднего гена SV40, гена  $\beta$ -глобина кролика (SEQ ID NO: 78), гена гормона роста крупного рогатого скота (BPH), гена гормона роста человека (hGH), синтетического поли(A)-сайта (SPA) и гена бычьего гормона роста (bGH). См., например, Powell and Rivera-Soto, 2015, *Discov. Med.*, 19(102):49-57.

#### 5.1.4 Сигнальные пептиды

[0082] В определенных вариантах осуществления векторы, представленные в данном документе, содержат компоненты, которые модулируют доставку белка. В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат один или более сигнальных пептидов. Сигнальные пептиды (также называемые «сигнальными последовательностями») также могут упоминаться в данном документе как «лидерные последовательности» или «лидерные пептиды». В определенных вариантах осуществления сигнальные пептиды позволяют продукту трансгена достичь желаемой упаковки (например, гликозилирования) в клетке. В определенных вариантах осуществления сигнальные пептиды позволяют продукту трансгена достичь желаемой локализации в клетке. В определенных вариантах осуществления сигнальные пептиды позволяют продукту трансгена достичь секреции из клетки.

[0083] Существует два общих подхода к выбору сигнальной последовательности для продукции белка в контексте генной терапии или в культуре клеток. Один из подходов заключается в использовании сигнального пептида из белков, гомологичных экспрессируемому белку. Например, сигнальный пептид человеческого антитела можно использовать для экспрессии IgG в CHO или других клетках. Еще один подход заключается в идентификации сигнальных пептидов, оптимизированных для конкретных клеток-хозяев,

используемых для экспрессии. Сигнальные пептиды можно обменивать между разными белками или даже между белками разных организмов, но, как правило, для экспрессии белка используются сигнальные последовательности наиболее широко секретируемых белков этого типа клеток. Например, было обнаружено, что сигнальный пептид человеческого альбумина, белка, наиболее распространенного в плазме, существенно увеличивает выход белка в клетках СНО. Однако определенные сигнальные пептиды могут сохранять функцию и проявлять активность после отщепления от экспрессируемого белка в качестве «функций после нацеливания». Таким образом, в конкретных вариантах осуществления сигнальный пептид выбран из сигнальных пептидов наиболее распространенных белков, секретируемых клетками, используемыми для экспрессии, чтобы избежать выполнения функций после нацеливания. В определенном варианте осуществления сигнальная последовательность слита с последовательностями как тяжелой, так и легкой цепи. Иллюстративной последовательностью является MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85), которая может кодироваться нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 90 (см. таблицу 2, Фиг. 2А-2С и 3А-3Н). В качестве альтернативы сигнальные последовательности, которые подходят для экспрессии и могут вызывать селективную экспрессию или направленную экспрессию чПМ мкАт или Fab или чПМ scFv в глазу/ЦНС, мышцах или печени, представлены в таблицах 2, 3, и 4, соответственно, ниже.

**Таблица 2. Сигнальные пептиды для экспрессии в ткани глаза/ЦНС**

<b>Источник сигнального пептида</b>	<b>SEQ ID NO:</b>	<b>Последовательность</b>
Мутантный сигнальный пептид интерлейкина 2	85	MYRMQLLLLIALLSLALVTNS
Последовательность, кодирующая мутантный сигнальный пептид интерлейкина-2	86	atgtataggatgcaactgctcctcctgattgctctgagcctggctctgtgaccaactct
Сигнальный пептид VEGF-A	87	MNFLLSWVHWSLALLLYLHNAKWSQA
Сигнальный пептид фибулина-1	88	MERAAPSRRVPLPLLLLGGGLALLAAGVDA

Сигнальный пептид витронектина	89	MAPLRPLLLALLAWVALA
Сигнальный пептид фактора комплемента Н	90	MRLLAКIICLMLWAICVA
Сигнальный пептид оптицина	91	MRLLAFLSLLALVLQETGT
Сигнальный пептид альбумина	92	MKWVTFISLLFLFSSAYS
Сигнальный пептид химотрипсина	93	MAFLWLLSCWALLGTTFG
Сигнальный пептид интерлейкина-2	94	MYRMQLLSCIALILALVTNS
Сигнальный пептид трипсина-2	95	MNLLLILTFVAAAVA

**Таблица 3.** Сигнальные пептиды для экспрессии в клетках печени.

<b>Источник сигнального пептида</b>	<b>SEQ ID NO:</b>	<b>Последовательность</b>
Альбумин сыворотки человека	96	MKWVTFISLLFLFSSAYS
Человеческий $\alpha$ -1-антитрипсин (SERPINA1)	97	MPSSVSWGILLLAGLCCLVPVSLA
Человеческий аполипопротеин А-1	98	MKAAVLTLAVLFLTGSQA
Человеческий аполипопротеин А-2	99	MKLLAATVLLLTICSLEG
Человеческий аполипопротеин В-100	100	MDPPRPALLALLALPALLLLLLLAGARA
Фактор свертывания крови IX человека	101	MQRVNMIMAESPLITICLLGYLLSAEC

<b>Источник сигнального пептида</b>	<b>SEQ ID NO:</b>	<b>Последовательность</b>
Человеческий компонент комплемента C2	102	MGPLMVLFCLLFLYPGLADS
Человеческий белок 2, связанный с фактором комплемента H, (CFHR2)	103	MWLLVSVILISRISSVGG
Человеческий белок 5, связанный с фактором комплемента H, (CFHR5)	104	MLLLFSVILISWVSTVGG
Альфа-цепь человеческого фибриногена (FGA)	105	MFSMRIVCLVLSVVGTAWT
Бета-цепь человеческого фибриногена (FGB)	106	MKRMVSWSFHKLKTMKHLLLLLLCVFLVKS
Гамма-цепь человеческого фибриногена (FGG)	107	MSWSLHPRNLILYFYALLFLSSTCVA
Человеческий $\alpha$ -2- HS-гликопротеин (AHSG)	108	MKSLVLLLCLAQLWGCHS
Гемопексин человека (HPX)	109	MARVLGAPVALGLWSLCWSLAIA
Кининоген-1 человека	110	MKLITILFLCSRLLLSLT
Человеческий связывающий	111	MSLFPSLPLLLLSMVAASYS

<b>Источник сигнального пептида</b>	<b>SEQ ID NO:</b>	<b>Последовательность</b>
маннозу белок С (MBL2)		
Плазминоген человека (PLMN)	112	MEHKEVVLLLLLFLKSGQG
Протромбин человека (фактор свертывания крови II)	113	MAHVRGLQLPGCLALAALCSLVHS
Секретируемый фосфопротеин 24 человека	114	MISRMEKMTMMMILIMFALGMNYWSCSG
Человеческий антитромбин-III (SERPINC1)	115	MYSNVIGTVTSGKRKVYLLSLLLIGFWDCVTC
Серотрансферрин человека (TF)	116	MRLAVGALLVCAVLGLCLA

**Таблица 4.** Сигнальные пептиды для экспрессии в мышечных клетках.

<b>Источник сигнального пептида</b>	<b>SEQ ID NO:</b>	<b>Последовательность</b>
SPARC человека	117	MRAWIFLLCLAGRALA
Цепь человеческого коллагена альфа-1 (I)	118	MFSFVDLRLLLLLAATALLTHG
Человеческий лактоферрин	119	MKLVFLVLLFLGALGLCLA
Человеческий компонент комплемента C3	120	MGPTSGPSLLLLLTHLPLALG
Человеческий люмикан	121	MSLSAFTLFLALIGGTSG
Изоформа I гельзолина человека	122	MAPHRPAPALLCALSLALCALSLPVRA

Источник сигнального пептида	SEQ ID NO:	Последовательность
Прокатепсин Н человека	123	MWATLPLLCAGAWLLGVPVCGA
SERPINF1 человека	124	MQALVLLLCIGALLGHSSC
SERPINE1 человека	125	MQMSPALTCLVLGLALVFGGSA
Катепсин D человека	126	MQPSSLLPLALCLLAAPASA
TIMP1 человека	127	MAPFEPLASGILLLLWLIAPSRA
Фибронектин человека	226	MLRGPGPGLLLLAVQCLGTAVPSTGASKSKR
Субкомпонент человеческого компонента комплемента C1s	178	MWCIVLFSLLAWVYA
Катепсин L1 человека	179	MNPTLILAAFCLGIASA
Катепсин В человека	180	MWQLWASLCCLLVLANA
Кислый богатый пролином фосфопротеин слюны человека ½	181	MLLILLSVALLAFSSA
Человеческий родственный фоллистатину белок 1	182	MWKRWLALALVAVAVVRA

### 5.1.5 Полицистронные мРНК – линкеры IRES и 2A и конструкции scFv

[0084] *Внутренние участки посадки рибосомы.* Можно сконструировать единую конструкцию для кодирования как тяжелой, так и легкой цепей, разделенных расщепляемым линкером или IRES, так что отдельные полипептиды тяжелой и легкой цепи экспрессируются трансдуцированными клетками. В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, обеспечивают полицистронные (например, бицистронные) мРНК. Например, вирусная конструкция может кодировать тяжелую и легкую цепи, разделенные элементами внутренние участки посадки рибосомы (IRES) (примеры использования элементов IRES для создания бицистронных векторов см., например, Gurtu et al., 1996, Biochem. Biophys. Res. Comm. 229(1):295-8, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме). Элементы IRES обходят модель рибосомного сканирования и начинают трансляцию на внутренних сайтах. Использование IRES в AAV описано, например, в Furling et al., 2001,

Gene Ther 8 (11): 854-73, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки. В определенных вариантах осуществления бицистронная мРНК содержится в вирусном векторе с ограничением размера полинуклеотида(-ов) в нем. В некоторых вариантах осуществления бицистронная мРНК содержится в векторе на основе вируса AAV (например, в векторе на основе AAV8, AAV3B или AAVrh73).

[0085] *Линкеры фурин-2А.* В других вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, кодируют тяжелую и легкую цепи, разделенные расщепляемым линкером, таким как саморасщепляющиеся 2А и 2А-подобные пептиды, с или без сайтов расщепления фурином, расположенных выше, например, линкеры фурин/2А, такие как линкеры фурин/F2А (F/F2А) или фурин/T2А (F/T2А) (Fang et al., 2005, Nature Biotechnology 23: 584-590, Fang, 2007, Mol Ther 15: 1153-9, и Chang, J. et al, MAbs 2015, 7(2):403-412, каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки). Например, линкер фурин/2А может быть включен в кассету экспрессии для разделения кодирующих последовательностей тяжелой и легкой цепи, в результате чего получается конструкция со структурой:

Сигнальная последовательность – тяжелая цепь – сайт фурина – сайт 2А – сигнальная последовательность – легкая цепь – поли(А).

Сайт 2А или сайт, подобный 2А, такой как сайт F2А, содержащий аминокислотную последовательность RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 143 или 144), или сайт T2А, содержащий аминокислотную последовательность RKRR(GSG)EGRGSLTCDGVEENPGP (SEQ ID NO: 141 или 142), является самопроцессирующимся, что приводит к «расщеплению» между конечными аминокислотными остатками G и P. Несколько линкеров, с или без расположенной выше гибкой линкерной последовательности Gly-Ser-Gly (GSG) (SEQ ID NO: 128), которые могут быть использованы, включают, но не ограничиваются ими:

T2A: (GSG)EGRGSLTCDGVEENPGP (SEQ ID NO:133 или 134);

P2A: (GSG)ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:135 или 136);

E2A: (GSG)QCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:137 или 138);

F2A: (GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:139 или 140)

(см. также, например, Szymczak, et al., 2004, Nature Biotechnol 22(5):589-594, и Donnelly, et al., 2001, J Gen Virol, 82:1013-1025, каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки). Примеры аминокислотных и нуклеотидных последовательностей, кодирующих различные части гибкого линкера, описаны в **Таблице 4**.

**Таблица 4.** Линкерные последовательности

ID	SEQ ID NO:	Последовательность
Линкер GSG	128	GSG
Линкер фурин	129	RKRR
Линкер фурин	130	RRRR
Линкер фурин	131	RRKR
Линкер фурин	132	RKKR
T2A	133	EGRGSLTTCGDVEENPGP
T2A	134	GSGEGRGSLTTCGDVEENPGP
P2A	135	ATNFSLLKQAGDVEENPGP
P2A	136	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
E2A	137	QCTNYALLKLAGDVESNPGP
E2A	138	GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP
F2A	139	APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
F2A	140	GSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
Фурин-T2A	141	RKRREGSGSLTTCGDVEENPGP
Фурин-GSG-T2A	142	RKRRGSGEGRGSLTTCGDVEENPGP
Фурин-F2A	143	RKRRAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
Фурин-GSG-F2A	144	RKRRGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
Фурин-GSG-T2A	145	agaaagagaagaggctctggagaaggcagaggctccctgctgacatg tggggatgtgaagagaatcctggcct
Фурин	146	agaaagagaaga
Линкер фурин-GSG	147	agaaagagaagaggctctgga
Линкер GSG	148	ggctctgga
T2A	149	gaaggcagaggctccctgctgacatgtggggatgtgaagagaatcct ggcct

[0086] В определенных вариантах осуществления дополнительный сайт протеолитического расщепления, например, сайт расщепления фурином включен в конструкцию экспрессии рядом с самопроцессирующимся сайтом расщепления (например, с 2A или последовательностью, подобной 2A), тем самым обеспечивая средства для удаления дополнительных аминокислот, которые остаются после расщепления с помощью самопроцессирующейся последовательности расщепления. Без привязки к какой-либо

теории, пептидная связь пропускается, когда рибосома встречает последовательность 2A в открытой рамке считывания, что приводит к прекращению трансляции или продолжению трансляции расположенной ниже последовательности (легкой цепи). Эта самопроцессирующаяся последовательность приводит к появлению цепочки дополнительных аминокислот на конце С-конца тяжелой цепи. Однако такие дополнительные аминокислоты могут затем расщепляться фурином клетки-хозяина на сайте(-ах) расщепления фурином, например, расположен непосредственно перед сайтом 2A и после последовательности тяжелой цепи, а затем расщепляется карбоксипептидазами. Полученная тяжелая цепь может иметь одну, две, три или более дополнительных аминокислот, включенных на С-конце, или она может не содержать таких дополнительных аминокислот, в зависимости от последовательности используемого фуринового линкера и карбоксипептидазы, которая расщепляет линкер *in vivo* (см., например, Fang et al., 17 April 2005, Nature Biotechnol. Advance Online Publication; Fang et al., 2007, Molecular Therapy 15(6):1153-1159; Luke, 2012, Innovations in Biotechnology, Ch. 8, 161-186). Фуриновые линкеры, которые можно использовать, содержат серию из четырех основных аминокислот, например, RKRR (SEQ ID NO: 129), RRRR (SEQ ID NO: 130), RRKR (SEQ ID NO: 131), или RKKR (SEQ ID NO: 132). Как только этот линкер расщепляется карбоксипептидазой, могут оставаться дополнительные аминокислоты, так что дополнительные ноль, одна, две, три или четыре аминокислоты могут оставаться на С-конце тяжелой цепи, например, R, RR, RK, RKR, RRR, RRK, RKK, RKRR (SEQ ID NO: 129), RRRR (SEQ ID NO: 130), RRKR (SEQ ID NO: 131), или RKKR (SEQ ID NO: 132). В некоторых вариантах осуществления после того, как линкер расщепляется карбоксипептидазой, дополнительных аминокислот не остается. В некоторых вариантах осуществления от 0,5% до 1%, от 1% до 2%, 5%, 10%, 15% или 20% антитела, например, антигенсвязывающего фрагмента, совокупности, продуцируемой конструкциями для применения в описанных в данном документе способах одна, две, три или четыре аминокислоты остаются на С-конце тяжелой цепи после расщепления. В определенных вариантах осуществления фуриновый линкер имеет последовательность R-X-K/R-R, так что дополнительными аминокислотами на С-конце тяжелой цепи являются R, RX, RXK, RXR, RXKR (SEQ ID NO:251), или RXRR (SEQ ID NO:252), где X представляет собой любую аминокислоту, например, аланин (A). В определенных вариантах осуществления никакие дополнительные аминокислоты не могут оставаться на С-конце тяжелой цепи.

[0087] *Гибкий пептидный линкер.* В некоторых вариантах осуществления может быть сконструирована единая конструкция для кодирования как тяжелой, так и легкой цепей (например, переменных доменов тяжелой и легкой цепей), разделенных гибким

пептидным линкером, таким как те, которые кодируют scFv. Гибкий пептидный линкер может состоять из гибких остатков, таких как глицин и серин, так что соседние домены тяжелой цепи и легкой цепи могут свободно перемещаться относительно друг друга. Конструкция может быть устроена так, что переменный домен тяжелой цепи находится на N-конце scFv, за которым следует линкер, а затем переменный домен легкой цепи. Альтернативно, конструкция может быть устроена так, что переменный домен легкой цепи находится на N-конце scFv, за которым следует линкер, а затем переменный домен тяжелой цепи. То есть компоненты могут быть расположены как NH<sub>2</sub>-V<sub>L</sub>-линкер-V<sub>H</sub>-COOH или NH<sub>2</sub>-V<sub>H</sub>-линкер-V<sub>L</sub>-COOH.

[0088] В определенных вариантах осуществления описанная в данном документе кассета экспрессии содержится в вирусном векторе с ограничением размера полинуклеотида(-ов) в нем. В определенных вариантах осуществления кассета экспрессии содержится в векторе на основе вируса AAV. Из-за ограничений по размеру определенных векторов вектор может вмещать или не вмещать кодирующие последовательности для полной тяжелой и легкой цепей терапевтического антитела, но может вмещать кодирующие последовательности тяжелой и легкой цепей антигенсвязывающих фрагментов, таких как тяжелые и легкие цепи фрагмента Fab или F(ab')<sub>2</sub> или scFv. В частности, описанные в данном документе векторы AAV могут содержать трансген приблизительно 4,7 тыс. пар оснований. Замена более мелких элементов экспрессии позволит экспрессировать более крупные белковые продукты, такие как полноразмерные терапевтические антитела.

#### **5.1.6 Нетранслируемые области**

[0089] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат одну или более нетранслируемых областей (UTR), например, 3'- и/или 5'-UTR. В определенных вариантах осуществления UTR оптимизированы в отношении желаемого уровня экспрессии белка. В определенных вариантах осуществления UTR оптимизированы в отношении периода полужизни мРНК трансгена. В определенных вариантах осуществления UTR оптимизированы в отношении стабильности мРНК трансгена. В определенных вариантах осуществления UTR оптимизированы в отношении вторичной структуры мРНК трансгена.

#### **5.1.7 Инvertированные концевые повторы**

[0090] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат одну или более последовательностей инvertированных концевых повторов (ITR). Последовательности ITR можно использовать для упаковки кассеты экспрессии рекомбинантного гена в вирион вирусного вектора. В определенных вариантах осуществления ITR происходит от AAV, например, AAV8 или

AAV2 (см., например, Y Yan et al., 2005, J. Virol., 79(1):364-379; патент США № 7282199 B2, патент США № 7790449 B2, патент США № 8318480 B2, патент США № 8962332 B2 и международную заявку на патент № PCT/EP2014/076466, каждая из которых полностью включена в данный документ посредством ссылки). В предпочтительных вариантах осуществления нуклеотидные последовательности, кодирующие ITR, могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 81 (5'-ITR) или 82 (3'-ITR). В некоторых вариантах осуществления могут использоваться модифицированные ITR, используемые для получения самокомплементарного вектора, например, scAAV (см., например, Wu, 2007, Human Gene Therapy, 18 (2): 171-82, McCarty et al, 2001, Gene Therapy, Vol 8, Number 16, страницы 1248-1254; и патенты США №№ 6596535, 7125717 и 7456683, каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки). В предпочтительных вариантах осуществления нуклеотидные последовательности, кодирующие модифицированные ITR, могут, например, включать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO:81 (5'-ITR) или 83 (3'-ITR) или модифицированные для scAAV, SEQ ID NO:82 (m 5'ITR) или SEQ ID NO: 84 (m 3'ITR).

### 5.1.8 Трансгены

[0091] Трансгены кодируют чПМ мкАт либо в виде полноразмерного антитела, либо в виде его антигенсвязывающего фрагмента, например, фрагмент Fab (HuGlyFab), или F(ab')<sub>2</sub>, наноантитела или scFv на основе терапевтического антитела, описанного в данном документе. В конкретных вариантах осуществления чПМ мкАт или антигенсвязывающий фрагмент, в частности HuGlyFab, сконструированы так, чтобы содержать дополнительные сайты гликозилирования в домене Fab (например, см. Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки для описания сайтов гипергликозилирования в домене Fab). Кроме того, для чПМ мкАт, содержащего домен Fc, домен Fc может быть сконструирован для изменения сайта гликозилирования в N297, чтобы предотвратить гликозилирование в этом сайте (например, замена в N297 на другую аминокислоту и/или замена в T297 для остатка, который не является T или S, чтобы инактивировать сайт гликозилирования). Такие домены Fc являются «агликозилированными».

#### 5.1.8.1 Конструкции для экспрессии полноразмерных чПМ мкАт

[0092] В определенных вариантах осуществления трансгены кодируют полноразмерную тяжелую цепь (включая переменный домен тяжелой цепи, константный домен 1 тяжелой цепи (C<sub>H1</sub>), шарнир и домен Fc) и полноразмерную легкую цепь (переменный домен легкой цепи и константный домен легкой цепи), которые при экспрессии связываются с образованием антигенсвязывающих антител с доменами Fc.

Рекомбинантные конструкции AAV экспрессируют интактное (т.е. полноразмерное) или по существу интактное чПМ мкАт в клетке, клеточной культуре или у субъекта. («По существу интактный» относится к мкАт, имеющему последовательность, которая имеет по меньшей мере 95% идентичности с полноразмерной последовательностью мкАт). Нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи, могут быть кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека и имеют сниженную частоту CpG-димеров в последовательности, способствующей экспрессии в клетках человека. См., например, кодон-оптимизированные последовательности адалимумаба (SEQ ID NO: 46-60) в **таблице 8**. Трансгены могут кодировать любое полноразмерное антитело. В предпочтительных вариантах осуществления трансгены кодируют полноразмерную форму любого из описанных в данном документе терапевтических антител, например, фрагмент Fab которых, изображенный на **Фиг. 2А-2С** или **3А-3Н** в данном документе и включая, в некоторых вариантах осуществления, связанный домен Fc, представленный в **таблице 6**.

[0093] Полноразмерное мкАт, кодируемое описанным в данном документе трансгеном, предпочтительно имеют домен Fc полноразмерного терапевтического антитела или представляют собой домен Fc того же типа иммуноглобулина, что и терапевтическое антитело, которое должно быть экспрессировано. В определенных вариантах осуществления область Fc представляет собой область Fc IgG, но в других вариантах область Fc может представлять собой область IgA, IgD, IgE или IgM. Домен Fc предпочтительно имеет тот же изотип, что и терапевтическое антитело, которое должно быть экспрессировано, например, если терапевтическое антитело является изотипом IgG1, тогда антитело, экспрессируемое трансгеном, содержит домен Fc IgG1. Антитело, экспрессируемое трансгеном, может иметь домен Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

[0094] Область Fc интактного мкАт выполняет одну или более эффекторных функций, которые зависят от изотипа антитела. Эффекторные функции могут быть такими же, как у антитела дикого типа или терапевтического антитела, или могут быть модифицированы на их основе для добавления, усиления, модификации или ингибирования одной или более эффекторных функций с использованием модификаций Fc, описанных в разделе 5.1.9 ниже. В некоторых вариантах осуществления трансген чПМ мкАт кодирует мкАт, содержащий полипептид Fc, содержащий аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в полипептидах домена Fc терапевтических антител, описанных в данном документе, как указано в **таблице 6** для адалимумаба, инфликсимаба и голимумаба, или иллюстративном домене Fc изотипа IgG1, IgG2 или IgG4, как указано в **таблице 6**. В некоторых вариантах осуществления чПМ

мкАт содержит полипептид Fc последовательности, которая представляет собой вариант последовательности полипептида Fc, представленной в **таблице 6**, в том аспекте, что последовательность была модифицирована одним или более способами, описанными в разделе 5.1.9, ниже, для изменения эффекторной функции полипептида Fc.

[0095] В некоторых вариантах осуществления представлены иллюстративные рекомбинантные конструкции AAV, такие как конструкции, показанные на **Фиг. 1А и 1В**, для введения субъекту-человеку генной терапии с целью экспрессии интактного или по существу интактного чПМ мкАт у субъекта. Конструкции для генной терапии сконструированы таким образом, что как тяжелая, так и легкая цепи экспрессируются в тандеме из вектора, включающего полипептид домена Fc тяжелой цепи. В определенных вариантах осуществления трансген кодирует трансген с полипептидами фрагментов Fab тяжелой и легкой цепей, как показано в **таблице 7**, но имеет тяжелую цепь, которая дополнительно содержит полипептид домена Fc на С-конце шарнирной области тяжелой цепи (включая домен Fc IgG1, IgG2 или IgG4 или Fc адалимумаба, инфликсимаба или голимумаба, как в **таблице 6**). В конкретных вариантах осуществления трансген представляет собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует следующее: сигнальная последовательность - Fab-часть тяжелой цепи (включая шарнирную область) - полипептид Fc тяжелой цепи - линкер фурин-2А - сигнальная последовательность - Fab-часть легкой цепи.

[0096] В конкретных вариантах осуществления для экспрессии интактного или по существу интактного мкАт в типах клеток ткани глаза конструкции, описанные в данном документе, содержат следующие компоненты: (1) инвертированные концевые повторы AAV2, которые фланкируют кассету экспрессии; (2) регуляторные элементы, которые включают а) индуцируемый промотор, предпочтительно промотор, специфический для тканей глаза, б) необязательно интрон, такой как интрон куриного β-актина или интрон VН4, и с) поли(А)-сигнал β-глобина кролика; и (3) последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие Fab тяжелой цепи мкАт к TNFα, к IL6 или к IL6R (например, адалимумаба, инфликсимаба, голимумаба, сатрализумаба, сарилумаба, тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилизумаба); полипептид Fc, связанный с терапевтическим антителом (**таблица 6**) или того же изотипа, что и нативная форма терапевтического антитела, такой как аминокислотная последовательность изотипа IgG из **таблицы 6**; и легкую цепь мкАт к TNFα, к IL6 или к IL6R (например, адалимумаба, инфликсимаба, голимумаба, сатрализумаба, сарилумаба, тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилизумаба), при этом тяжелая цепь (Fab и Fc) и легкая цепь разделены саморасщепляющимся фурином (F)/F2A или T2A или гибким

линкером, обеспечивающим экспрессию равных количеств полипептидов тяжелой и легкой цепей. Иллюстративные конструкции представлены на **Фиг. 1А и 1В**.

[0097] В конкретных вариантах осуществления предложены векторы AAV, содержащие вирусный капсид, который имеет по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью капсида AAV8 (SEQ ID NO:196); и искусственный геном, содержащий кассету экспрессии, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, при этом кассета экспрессии содержит трансген, кодирующий интактное или по существу интактное мкАт к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R; функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках типа ткани глаза.

[0098] Векторы на основе гAAV, которые кодируют и экспрессируют полноразмерные терапевтические антитела, можно вводить для лечения, предотвращения или облегчения симптомов заболевания или патологического состояния, поддающегося лечению, предотвращению или облегчению симптомов с помощью терапевтических антител. Также представлены способы экспрессии чПМ мкАт в клетках человека с использованием векторов гAAV и конструкций, кодирующих их.

### **5.1.8.2 Конструкции для экспрессии антигенсвязывающих фрагментов**

[0099] В некоторых вариантах осуществления трансгены экспрессируют антигенсвязывающие фрагменты, например, фрагмент Fab (HuGlyFab) или F(ab')<sub>2</sub>, наноантитело или scFv на основе терапевтического антитела, описанного в данном документе. На **Фиг. 2А-2С** и **3А-3Н** и в разделе 5.4 предложена аминокислотная последовательность тяжелой и легкой цепей фрагментов Fab терапевтических антител (см. также **таблицу 7**, в которой приведены аминокислотные последовательности Fab тяжелой и легкой цепей терапевтических антител).

[0100] Некоторые из этих нуклеотидных последовательностей являются кодон-оптимизированы для экспрессии в клетках человека. См., например, кодон-оптимизированные последовательности этанерцепта (SEQ ID NO: 46-60) в **таблице 8**. Трансген может кодировать фрагмент Fab с использованием нуклеотидных последовательностей, кодирующих аминокислотные последовательности, представленные в **таблице 7**, но не включая часть шарнирной области тяжелой цепи, которая образует межцепочечные дисульфидные связи (например, часть, содержащую последовательность CPPCPA (SEQ ID NO:150)). Последовательности домена Fab тяжелой цепи, которые не содержат последовательность шарнирной области CPPCP (SEQ ID NO: 151) на С-конце, не будут образовывать дисульфидные связи внутри цепи и, таким образом, будут образовывать фрагменты Fab с соответствующими последовательностями домена Fab легкой цепи, тогда

как эти последовательности домена Fab тяжелой цепи с частью шарнирной области на С-конце, содержащей последовательность CPPCP (SEQ ID NO: 151), будут образовывать внутрицепочечные дисульфидные связи и, таким образом, будут образовывать фрагменты Fab<sub>2</sub>. Например, в некоторых вариантах осуществления трансген может кодировать scFv, содержащий переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, соединенные гибким линкером между ними (где переменный домен тяжелой цепи может находиться либо на N-терминальном конце, либо на С-терминальном конце scFv) и, необязательно, может дополнительно содержать полипептид Fc (например, IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4) на С-терминальном конце тяжелой цепи. Альтернативно, в других вариантах осуществления трансген может кодировать фрагменты F(ab')<sub>2</sub>, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь, и последовательность тяжелой цепи, которая включает по меньшей мере последовательность CPPCA (SEQ ID NO: 152) шарнирной области, как показано на **Фиг. 2А-2С и 3А-3Н**, на которых изображены различные области шарнирной области, которые могут быть включены на С-конце последовательности тяжелой цепи. Существующие ранее антитела против шарнирной области (АНА) могут вызывать иммуногенность и снижать эффективность. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления для изоформа IgG1 С-терминальный конец заканчивается D221 или заканчивается мутацией T225L или L242, что может снижать связывание с АНА. (См., например, Brezski, 2008, J Immunol 181: 3183-92 и Kim, 2016, 8: 1536-1547). Для IgG2 риск АНА ниже, поскольку шарнирная область IgG2 не так восприимчива к ферментативному расщеплению, необходимому для образования эндогенного АНА. (См., например, Brezski, 2011, MAbs 3: 558-567).

**Таблица 5. Шарнирные области**

SEQ ID NO:	Последовательность
150	CPPCP
151	CPPCPA
152	CPPCA
153	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
154	EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG
155	EPKSCDKTHL
156	EPKSCDKTHT
157	EPKSCDKTHTCPPCPA
158	EPKSCDKTHLCPPCPA
159	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL

SEQ ID NO:	Последовательность
160	EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL
161	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG
162	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL
163	EPKSCDKTHLCPPCPAPEAAGGPSVFL
164	ERKSCVECPPCPAPPVAG
165	ERKSCVECPPCPA
166	ESKYGPPCPPCPAPEFLGG
167	ESKYGPPCPPCPA
168	ESKYGPPCPSCPA
150	ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFL
169	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL
170	ERKCCVECPPCPAPPVAG
171	ERKCCVECPPCPA
172	EPKSCDKTHTCPPCPAPELAGA
173	EPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFL
174	EPKSCDKTHLCPPCPAPELAGAPSVFL
175	EPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGG
176	EPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFL
177	EPKSCDKTHLCPPCPAPEFEGGPSVFL

[0101] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат следующие элементы в следующем порядке: а) конститутивная или индуцибельная (например, индуцируемая гипоксией или индуцируемая рифамицином) последовательность промотора или тканеспецифическая промоторная / регуляторная область, например, одна из регуляторных областей, представленных в **таблице 1** или **1a**, и б) последовательность, кодирующую трансген (например, HuGlyFab). В определенных вариантах осуществления последовательность, кодирующая трансген, включает несколько ОРС, разделенных элементами IRES. В определенных вариантах осуществления ОРС кодируют домены тяжелой и легкой цепей HuGlyFab. В определенных вариантах осуществления последовательность, кодирующая трансген, включает несколько субъединиц в одной ОРС, разделенных последовательностями F/F2A или последовательностями F/T2A. В определенных вариантах осуществления последовательность, содержащая трансген, кодирует домены

тяжелой и легкой цепи HuGlyFab, разделенные последовательностью F/F2A или последовательностью F/T2A. В определенных вариантах осуществления последовательность, содержащая трансген, кодирует переменные домены тяжелой и легкой цепей HuGlyFab, разделенные гибким пептидным линкером (как scFv). В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат следующие элементы в следующем порядке: а) конститутивная или индуцируемая промоторная последовательность или тканеспецифический промотор, такой как один из промоторов или регуляторных областей в **таблице 1** или **1a**, и б) последовательность, кодирующая трансген (например, HuGlyFab), где трансген содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую сигнальный пептид, легкую цепь и Fab-часть тяжелой цепи, разделенные элементом IRES. В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат следующие элементы в следующем порядке: а) конститутивная или индуцируемая гипоксией промоторная последовательность или регуляторный элемент, перечисленные в **таблице 1** или **1a**, и б) последовательность, кодирующая трансген, содержащий сигнальный пептид, последовательность легкой цепи и последовательность тяжелой цепи, разделенные расщепляемой последовательностью F/F2A (SEQ ID NO: 143 или 144) или последовательностью F/T2A (SEQ ID NO: 141 или 142), или гибким пептидным линкером.

[0102] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат следующие элементы в следующем порядке: а) первая последовательность ITR, б) первая линкерная последовательность, в) конститутивная или индуцибельная промоторная последовательность или тканеспецифический промотор или регуляторная область, г) вторая линкерная последовательность, д) интронная последовательность, е) третья линкерная последовательность, ж) первая последовательность UTR, з) последовательность, кодирующая трансген (например, HuGlyFab), и) вторая последовательность UTR, к) четвертая линкерная последовательность, л) последовательность поли(A), м) пятая линкерная последовательность и н) вторая последовательность ITR.

[0103] В определенных вариантах осуществления вирусные векторы, представленные в данном документе, содержат следующие элементы в следующем порядке: а) первая последовательность ITR, б) первая линкерная последовательность, в) конститутивная или индуцибельная промоторная последовательность или тканеспецифическая регуляторная область, г) вторая линкерная последовательность, д) интронная последовательность, е) третья линкерная последовательность, ж) первая последовательность UTR, з) последовательность, кодирующая трансген (например,

HuGlyFab), i) вторая последовательность UTR, j) четвертая линкерная последовательность k) последовательность поли(A), l) пятая линкерная последовательность и m) вторая последовательность ITR, где трансген содержит сигнал, и где трансген кодирует последовательность легкой цепи и последовательность тяжелой цепи, разделенных расщепляемой последовательностью F/2A.

### 5.1.9 Модификации области Fc

[0104] В определенных вариантах осуществления трансгены кодируют полноразмерные или практически полноразмерные тяжелые и легкие цепи, которые связываются с образованием полноразмерного или интактного антитела. («По существу интактный» или «по существу полноразмерный» относится к мкАт, имеющему последовательность тяжелой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности полноразмерной тяжелой цепи мкАт, и последовательность легкой цепи, которая имеет по меньшей мере 95% идентична аминокислотной последовательности полноразмерного моноклонального антитела легкой цепи). Соответственно, трансгены содержат нуклеотидные последовательности, которые кодируют, например, легкую и тяжелую цепи фрагментов Fab, включая шарнирную область тяжелой цепи и C-конец тяжелой цепи фрагмента Fab, пептид домена Fc. В **таблице 6** представлена аминокислотная последовательность полипептидов Fc для адалимумаба, инфликсимаба, голимумаба, сатрализумаба, сарилумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба и тоцилизумаба. В качестве альтернативы можно использовать домен Fc IgG1, IgG2 или IgG4, последовательности которого представлены в **таблице 6**.

[0105] Термин «область Fc» относится к димеру двух «полипептидов Fc» (или «доменов Fc»), при этом каждый из «полипептида Fc» включает константную область тяжелой цепи антитела, за исключением первого константного домена иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления «область Fc» включает два полипептида Fc, связанных одной или более дисульфидными связями, химическими линкерами или пептидными линкерами. «Полипептид Fc» относится к двум последним доменам константной области иммуноглобулина IgA, IgD и IgG и к трем последним доменам константной области иммуноглобулина IgE и IgM, а также к гибкому шарнирному N-концу этих доменов. Для IgG, например, «полипептид Fc» включает иммуноглобулиновые домены Сгамма2 (C $\gamma$ 2, часто называемый доменом CH2) и Сгамма3 (C $\gamma$ 3, также называемый доменом CH3) и может включать нижнюю часть шарнирного домена между Сгамма1 (C $\gamma$ 1, также называемый доменом CH1) и доменом CH2. Хотя границы полипептида Fc могут варьироваться, полипептид Fc тяжелой цепи IgG человека по определению, как правило, содержит остатки, начиная с T223 или C226, или P230 до ее карбоксильного конца, причем

нумерация соответствует индексу EU, как у Kabat et al., (1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Services, Springfield, Va.). Например, для IgA полипептид Fc содержит иммуноглобулиновые домены Сальфа2 (Ca2) и Сальфа3 (Ca3) и может включать нижнюю часть шарнирной области между Сальфа1 (Ca1) и Ca2.

[0106] В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc представляет собой полипептид терапевтического антитела или представляет собой полипептид Fc, соответствующий изотипу терапевтического антитела). В других вариантах осуществления полипептид Fc представляет собой полипептид Fc IgG. Полипептид Fc может происходить из изотипа IgG1, IgG2 или IgG4 (см. **Таблицу 6**) или может представлять собой домен Fc IgG3, в зависимости, например, от желаемой эффекторной активности терапевтического антитела. В некоторых вариантах осуществления сконструированная константная область тяжелой цепи (CH), которая включает домен Fc, является химерной. По существу, химерная область CH объединяет домены CH, происходящие от более чем одного изотипа и/или подтипа иммуноглобулина. Например, химерная (или гибридная) область CH включает часть или всю область Fc из IgG, IgA и/или IgM. В других примерах химерная область CH содержит часть или весь домен CH2, полученный из молекулы человеческого IgG1, человеческого IgG2 или человеческого IgG4, в комбинации с частью или всем доменом CH3, полученным из молекулы человеческого IgG1, человеческого IgG2 или человеческого IgG4. В других вариантах осуществления химерную область CH содержит химерную шарнирную область.

**Таблица 6. Таблица аминокислотных последовательностей домена Fc**

Fc	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательность
IgG1	Домен Fc / SEQ ID NO: 61	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTL PPSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFFLYSKLTV DKSRLWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
IgG2	Домен Fc / SEQ ID NO: 62	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTFRV VSVLTVVHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPAPI EKTISKTKGQ PREPQVYTL PPSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDISVEWE SNGQPENNYK TTPPMLDSDG SFFFLYSKLTV DKSRLWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS

Fc	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательность
		LSPGK
IgG4	Домен Fc / SEQ ID NO: 63	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSQEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPSSI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSQEEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSGD SFFLYSRLTV DKSRWQEGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSLGK
Адалим умаб	Домен Fc / SEQ ID NO: 64	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSGD SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Инфлик симаб	Домен Fc / SEQ ID NO: 65	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSGD SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Голиму маб	Домен Fc / SEQ ID NO: 66	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSGD SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Сатрали зумаб	Домен Fc/ SEQ ID NO: 67	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSQEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTFRV VSVLTVVHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPAPI EKTISKTKGQ PREPQVYTLP PSQEEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPMLDSGD SFFLYSKLTV DKSRWQEGNV FSCSVMHEAL HAHYTQKSLS LSP
Сарилу	Домен	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV

Fc	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательность
маб	Fc / SEQ ID NO: 185	EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLF PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Силтукс имаб	Домен Fc / SEQ ID NO: 68	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLF PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Клазаки зумаб	Домен Fc / SEQ ID NO: 69	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYASTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLF PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Сируку маб	Домен Fc/ SEQ ID NO: 70	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLF PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK
Олокиз умаб	Домен Fc / SEQ ID NO: 71	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSQEDPE VQFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQFNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPSSI EKTISKAKGQ PREPQVYTLF PSQEEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSRLTV DKSRWQEGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSLGK
Тоцили зумаб	Домен Fc / SEQ ID NO: 72	FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLF PSRDELTKNQ

Fc	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательность
		VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPG

[0107] В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные векторы кодируют терапевтические антитела, содержащие сконструированные (мутантные) области Fc, например сконструированные области Fc константной области IgG. Модификации константной области антитела, области Fc или фрагмента Fc антитела IgG могут изменять одну или более эффекторных функций, таких как связывание Fc-рецептора или связывание неонатального Fc-рецептора (FcRn) и, таким образом, период полужизни, активность КЗЦ, активность АЗКЦ и/или активность АЗКФ по сравнению с соответствующим антителом, имеющим константную область IgG дикого типа или константную область тяжелой цепи IgG без указанной модификации(-й). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антитело может быть сконструировано для обеспечения константной области антитела, области Fc или фрагмента Fc антитела IgG, которое демонстрирует измененное связывание (по сравнению с эталонной константной областью или константной областью дикого типа без указанной модификации(-й)) с одним или более Fc-рецепторами (например, рецептором Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RIIA, Fc $\gamma$ RIIB, Fc $\gamma$ RIIIA, Fc $\gamma$ RIIIB, Fc $\gamma$ RIV или FcRn). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой константную область антитела, область Fc или фрагмент Fc антитела IgG, которое проявляет одну или более измененных эффекторных функций, таких как активность КЗЦ, АЗКЦ или АЗКФ, по сравнению с соответствующим антителом, имеющим константную область IgG дикого типа или константную область IgG без указанной модификации(-й).

[0108] «Эффекторная функция» относится к биохимическому событию, которое является результатом взаимодействия области Fc антитела с Fc-рецептором или лигандом. Эффекторные функции включают опосредованные Fc $\gamma$ R эффекторные функции, такие как АЗКЦ и АЗКФ, и опосредованные комплементом эффекторные функции, такие как КЗЦ.

[0109] «Эффекторная клетка» относится к клетке иммунной системы, которая экспрессирует один или более Fc-рецепторов и опосредует одну или более эффекторных функций. Эффекторные клетки включают, но не ограничиваются ими, моноциты, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, эозинофилы, тучные клетки, тромбоциты, В-клетки, большие гранулярные лимфоциты, клетки Лангерганса, натуральные клетки-киллеры (NK) и Т-клетки, и могут быть получены из любого организма, включая, помимо

прочего, людей, мышей, крыс, кроликов и обезьян.

[0110] «АЗКЦ» или «антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность» относится к клеточно-опосредованной реакции, при которой неспецифические цитотоксические эффекторные (иммунные) клетки, экспрессирующие FcγR, распознают связанное антитело на целевой клетке и впоследствии вызывают лизис целевой клетки.

[0111] «АЗКФ» или «антителозависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз» относится к клеточно-опосредованной реакции, при которой неспецифические цитотоксические эффекторные (иммунные) клетки, экспрессирующие FcγR, распознают связанное антитело на целевой клетке и впоследствии вызывают фагоцитоз целевой клетки.

[0112] «КЗЦ» или «комплемент-зависимая цитотоксичность» относится к реакции, в которой один или более компонентов белка комплемента распознают связанное антитело на целевой клетке и впоследствии вызывают лизис этой целевой клетки.

[0113] В некоторых вариантах осуществления модификации домена Fc включают, но не ограничиваются ими, следующие модификации и их комбинации со ссылкой на нумерацию EU константной области IgG (см. Фиг. 6): 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 248, 249, 250, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 301, 303, 305, 307, 308, 309, 311, 312, 315, 318, 320, 322, 324, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 428, 430, 433, 434, 435, 437, 438, и 439.

[0114] В определенных вариантах осуществления область Fc включает добавление, делецию или замену аминокислот одного или более аминокислотных остатков 251-256, 285-290, 308-314, 385-389 и 428-436 IgG. В некоторых вариантах осуществления 251-256, 285-290, 308-314, 385-389 и 428-436 (нумерация EU по Kabat; см. Фиг. 6) заменены гистидином, аргинином, лизином, аспарагиновой кислотой, глутаминовой кислотой, серином, треонином, аспарагином или глутамином. В некоторых вариантах осуществления отличный от гистидина остаток заменен гистидиновым остатком. В некоторых вариантах осуществления гистидиновый остаток заменен отличным от гистидина остатком.

[0115] Усиление связывания FcRn с помощью антитела, имеющего сконструированный Fc, приводит к предпочтительному связыванию антитела с усиленной аффинностью с FcRn по сравнению с антителом, имеющим Fc, дикого типа, и, таким образом, приводит к общему усиленному рециклингу антитела с усиленной аффинностью в отношении рецепторов FcRn, что приводит к дальнейшему увеличению периода полужизни антител. Усовершенствованный подход к рециркуляции обеспечивает

высокоэффективное нацеливание и удаление антигенов, в том числе, например, антигены с «высоким титром» в кровотоке, такие как C5, цитокины или бактериальные или вирусные антигены.

[0116] В определенных вариантах осуществления представлены модифицированная константная область, область Fc или фрагмент Fc антитела IgG с усиленным связыванием с FcRn в сыворотке по сравнению с областью Fc дикого типа (без сконструированных модификаций). В некоторых случаях антитела, например, антитела IgG сконструированы для связывания с FcRn при нейтральном pH, например, при pH 7,4 или выше, для усиления зависимости от pH связывания с FcRn по сравнению с областью Fc дикого типа (без сконструированных модификаций). В некоторых случаях антитела, например, антитела IgG сконструированы так, чтобы проявлять повышенное связывание (например, повышенную аффинность или  $K_D$ ) с FcRn в эндосомах (например, при кислом pH, например, при pH 6,0 или ниже) по сравнению с IgG дикого типа и/или эталонным антителом, связывающимся с FcRn при кислом pH, а также по сравнению со связыванием с FcRn в сыворотке (например, при нейтральном pH, например, при pH 7,4 или выше). Представлены антитела с константной областью сконструированного антитела, областью Fc или фрагментом Fc антитела IgG, которые демонстрируют улучшенный период полужизни в сыворотке или ткани резидентных клеток по сравнению с соответствующим антителом, имеющим константную область IgG дикого типа или константой IgG без указанной модификации(-й);

[0117] Неограничивающие примеры таких модификаций Fc включают, например, модификацию в положении 250 (например, E или Q); 250 и 428 (например, L или F); 252 (например, LN/Y/W или T), 254 (например, S или T) и 256 (например, S/R/Q/E/D или T); или модификацию в положении 428 и/или 433 (например, H/L/R/S/P/Q или K) и/или 434 (например, H/F или Y); или модификацию в положении 250 и/или 428; или модификацию в положении 307 или 308 (например, 308F, V308F) и 434. В одном варианте осуществления модификация включает модификацию 428L (например, M428L) и 434S (например, N434S); модификации 428L, 2591 (например, V2591) и 308F (например, V308F); модификации 433K (например, H433K) и 434 (например, 434Y); модификации 252, 254 и 256 (например, 252Y, 254T и 256E); модификации 250Q и 428L (например, T250Q и M428L); и модификации 307 и/или 308 (например, 308F или 308P) (нумерация EU; см. Фиг. 6).

[0118] В некоторых вариантах осуществления область Fc может быть мутантной формой, такой как hIgG1 Fc, включая мутации M252, например M252Y, S254T и T256E («мутация YTE») проявляют повышенную аффинность к человеческому FcRn (Dall'Acqua, et al., 2002, J Immunol 169: 5171-5180) и последующую кристаллическую структуру этого мутантного антитела, связанного с hFcRn, что приводит к созданию двух соляных мостиков

(Oganesyanyan, et al. 2014, JBC 289(11): 7812–7824). Антитела, содержащие мутацию YTE, вводили обезьянам и людям, и у них значительно улучшились фармакокинетические свойства (Haraya, et al., 2019, Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 34(1):25-41).

[0119] В некоторых вариантах осуществления модификации одного или более аминокислотных остатков в области Fc могут снижать период полужизни в системном кровотоке (сыворотке), однако приводят к улучшенному удержанию в тканях (например, в глазу) за счет блокирования связывания FcRn (например, H435A, нумерация EU по Kabat) (Ding et al., 2017, MAbs 9:269-284; и Kim, 1999, Eur J Immunol 29:2819).

[0120] В некоторых вариантах осуществления домен Fc может быть сконструирован для активации всех, некоторых или ни одной из нормальных эффекторных функций Fc, не влияя на желаемые фармакокинетические свойства полипептида Fc (например, антитела). Полипептиды Fc с измененной эффекторной функцией могут быть желательными, поскольку они могут снижать нежелательные побочные эффекты, такие как активация эффекторных клеток терапевтическим белком.

[0121] Способы изменения или даже устранения эффекторной функции могут включать мутацию(-и) или модификацию(-и) аминокислотных остатков шарнирной области антитела. Например, мутанты домена Fc IgG, содержащие замены 234A, 237A и 238S, в соответствии с системой нумерации EU, демонстрируют сниженный комплемент-зависимый лизис и/или опосредованное клетками разрушение. Делеции и/или замены в нижнем шарнире, например, где положения 233-236 в пределах шарнирного домена (нумерация EU) удалены или изменены на глицин, как было показано в данной области, значительно снижают активность АЗКЦ и КЗЦ.

[0122] В конкретных вариантах осуществления домен Fc представляет собой агликозилированный домен Fc, который имеет замену в остатке 297 или 299 для изменения сайта гликозилирования на 297, так что домен Fc не гликозилирован. Такие агликозилированные домены Fc могут обладать пониженной АЗКЦ или другой эффекторной активностью.

[0123] Неограничивающие примеры белков, содержащих мутантные и/или химерные области СН с измененными эффекторными функциями, и способы конструирования и тестирования мутантных антител описаны в данной области техники, например, в K.L. Amour, et al., Eur. J. Immunol. 1999, 29:2613–2624; Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2006, 103:4005; публикации заявки на патент США № 20070135620A1, опубликованной 14 июня 2007 г.; публикации заявки на патент США № 20080154025 A1, опубликованной 26 июня 2008 г.; публикации заявки на патент США № 20100234572 A1, опубликованной 16 сентября 2010 г.; публикации заявки на патент США № 20120225058 A1,

опубликованной 6 сентября 2012 г.; публикация заявки на патент США № 20150337053 A1, опубликованной 26 ноября 2015 г.; международной публикации № WO20/16161010A2, опубликованной 6 октября 2016 г.; US 9359437, выданной 7 июня 2016 г.; и патенте США № 10053517, выданном 21 августа 2018 г., все из которых включены в данный документ посредством ссылки.

[0124] С-концевые лизины (-K), консервативные в генах тяжелых цепей всех подклассов человеческого IgG, обычно отсутствуют в антителах, циркулирующих в сыворотке, С-концевые лизины отщепляются в кровотоке, что приводит к гетерогенной популяции циркулирующих IgG (van den Bremer et al., 2015, mAbs 7: 672-680). В векторных конструкциях для полноразмерных мкАт ДНК, кодирующая С-концевой лизин (-K) или глицин-лизин (-GK) конца Fc, может быть удалена для получения более гомогенного препарата на основе антител *in situ*. (См. Hu et al., 2017 Biotechnol. Prog. 33: 786-794, полное содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки).

#### 5.1.10 Производство и тестирование векторов

[0125] Предлагаемые в данном документе вирусные векторы могут быть изготовлены с использованием клеток-хозяев. Предлагаемые в данном документе вирусные векторы могут быть произведены с использованием клеток-хозяев млекопитающих, например, A549, WENI, 10T1/2, ВНК, MDCK, COS1, COS7, BSC 1, BSC 40, BMT 10, VERO, W138, HeLa, 293, Saos, C2C12, L, HT1080, HepG2, первичные фибробласты, гепатоциты и миобластные клетки. Предлагаемые в данном документе вирусные векторы могут быть получены с использованием клеток-хозяев от человека, обезьяны, мыши, крысы, кролика или хомяка.

[0126] Клетки-хозяева стабильно трансформируются последовательностями, кодирующими трансген и связанные элементы (например, векторный геном), и средствами продуцирования вирусов в клетках-хозяевах, например, генами репликации и капсида (например, генами гер и сар AAV). Для получения информации о способе получения рекомбинантных векторов AAV с капсидами AAV8 см. Раздел IV Подробного описания патента США № 7282199 B2, который полностью включен в данный документ посредством ссылки. Титры копий генома указанных векторов можно определить, например, с помощью анализа TAQMAN®. Вирионы могут быть извлечены, например, путем осаждения CsCl<sub>2</sub>.

[0127] Альтернативно, системы экспрессии бакуловирусов в клетках насекомых можно использовать для получения векторов AAV. Для обзора см. Aronte-Ubillus et al., 2018, Appl. Microbiol. Biotechnol. 102:1045-1054, который полностью включен в данный документ посредством ссылки в отношении производственных технологий.

[0128] Анализы *in vitro*, например, анализ культуры клеток, могут быть

использованы для измерения экспрессии трансгена из вектора, описанного в данном документе, что указывает, например, на эффективность вектора. Кроме того, анализы нейтрализации *in vitro* можно использовать для измерения активности трансгена, экспрессируемого из описанного в данном документе вектора. Например, клетки Vero-E6, линия клеток, полученная из почек африканской зеленой мартышки, или клетки HeLa, сконструированные для стабильной экспрессии рецептора ACE2 (HeLa-ACE2), можно использовать для оценки нейтрализующей активности трансгенов, экспрессируемых из вектора, описанного в данном документе. Кроме того, могут быть определены другие характеристики экспрессированного продукта, например, определение паттернов гликозилирования и сульфатирования тирозина, связанных с HuGlyFab. Модели гликозилирования и методы их определения обсуждаются в разделе 5.3, а модели сульфатирования тирозина и методы их определения обсуждаются в разделе 5.3. Кроме того, преимущества, возникающие в результате гликозилирования/сульфатирования экспрессируемого клетками HuGlyFab, можно определить с помощью анализов, известных в данной области техники, например, способов, описанных в разделе 5.3.

[0129] Концентрацию генома вектора (GC) или копии генома вектора можно оценить с помощью цифровой ПЦР (цПЦР) или ddPCR™ (BioRad Technologies, Геркулес, штат Калифорния, США). В одном примере образцы тканей глаза, такие как образцы водянистой влаги и/или стекловидного тела, получают в несколько моментов времени. В еще одном примере несколько мышей умерщвляют в различные моменты времени после инъекции. Образцы ткани глаза подвергают экстракции тотальной ДНК и анализу количества копий вектора с помощью цПЦР. Копии генома вектора (трансгена) на грамм ткани могут быть измерены в одном образце биопсии или измерены в различных срезах ткани в последовательные моменты времени, чтобы выявить распространение AAV по всему глазу. Тотальную ДНК из собранной глазной жидкости или ткани выделяют с помощью набора DNeasy Blood & Tissue Kit, а концентрацию ДНК измеряют с помощью спектрофотометра Nanodrop. Для определения количества копий вектора в каждом образце ткани проводят цифровую ПЦР с использованием системы Naica Crystal Digital PCR (технологии Stilla). Двухцветная система мультиплексирования применяется для одновременного измерения трансгенного AAV и эндогенного контрольного гена. Вкратце, зонд трансгена можно пометить красителем FAM (6-карбоксихлорофлуоресцеин), а зонд эндогенного контроля можно пометить флуоресцентным красителем VIC. Количество копий доставленного вектора в конкретном срезе ткани на диплоидную клетку рассчитывают как: (количество копий вектора)/(эндогенный контроль)×2. Копия вектора в определенных типах клеток или тканях, таких как роговица, радужка, цилиарное тело, клетки шлеммова канала, трабекулярная сеть,

клетки сетчатки, клетки ПЭС, ткань ПЭС-хориоида или клетки зрительного нерва, с течением времени может указывать на устойчивую экспрессию трансгена тканью.

#### 5.1.11 Композиции

[0130] Фармацевтические композиции, подходящие для введения людям, включают суспензию рекомбинантного вектора в буфере для состава, содержащем физиологически совместимый водный буфер, поверхностно-активное вещество и необязательные эксципиенты. Такой буфер для состава может содержать один или более из полисахаридов, поверхностно-активных веществ, полимеров или масел. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гAAV в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем для введения субъекту. В одном варианте осуществления термин «фармацевтически приемлемый» обозначает одобренный регуляторным ведомством Федерального правительства или правительством штата, или приведенный в Фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для применения для животных, а более конкретно для человека. Термин «носитель» относится к разбавителю, адьюванту (например, полному и неполному адьюванту Фрейнда), эксципиенту или средству, с помощью которого вводится агент. Такие фармацевтические носители могут представлять собой стерильные жидкости, такие как вода и масла, включая нефтяные масла, масла животного, растительного или синтетического происхождения, включая, например, арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и т. п. Вода является стандартным носителем при внутривенном введении фармацевтической композиции. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также можно использовать в качестве жидких носителей, в частности, для растворов для инъекций. Подходящие фармацевтические наполнители включают крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, солод, рис, муку, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерин, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропиленгликоль, воду, этанол и т. п. Дополнительные примеры фармацевтически приемлемых носителей, эксципиентов и стабилизаторов включают, но не ограничиваются ими, буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту; полипептиды с низкой молекулярной массой; белки, такие как сывороточный альбумин и желатин; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахарные спирты, такие как маннит или сорбитол; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN<sup>TM</sup>, полиэтиленгликоль (PEG) и PLURONICS<sup>TM</sup>,

известные в данной области техники. Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может также включать смазывающее вещество, смачивающий агент, подсластитель, ароматизатор, эмульгатор, суспендирующий агент и консервант в дополнение к вышеуказанным ингредиентам. Данные композиции могут находиться в форме растворов, суспензий, эмульсий, таблеток, пилюль, капсул, порошков, составов с замедленным высвобождением и т. п.

## 5.2 Способы лечения неинфекционного увеита

[0131] В еще одном аспекте способы лечения неинфекционного увеита или других заболеваний, которые можно лечить с помощью антитела к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R, у нуждающегося в этом субъекта, включающие введение рекомбинантных частиц AAV, содержащих кассету экспрессии, кодирующую антитела к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R и их связывающие антитела фрагменты и варианты или пептиды. Субъект, нуждающийся в этом, включает субъекта, имеющего неинфекционный увеит, или субъекта, предрасположенного к нему, например, субъекта с риском развития или рецидива неинфекционного увеита, или с другой патологией, которые можно лечить с помощью антитела к TNF $\alpha$ . Субъекты, которым проводят такую генную терапию, могут быть субъектами, чувствительными к терапии анти-TNF $\alpha$ , например, адалимумабом, инфликсимабом или голимумабом, или анти-IL6, или анти-IL6R, например, сатрализумабом, сарилумабом, силтуксимабом, клазакизумабом, сирукумабом, олокизумабом, герилизумабом или тоцилизумабом. В конкретных вариантах осуществления способы включают лечение пациентов, у которых был диагностирован неинфекционный увеит и, в некоторых вариантах осуществления, выявлено, что они отвечают на лечение антителом к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R или считающихся хорошим кандидатом на терапию антителами к TNF $\alpha$ , IL6 или IL6R. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее получали лечение антителом к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R. Для определения реактивности антитела к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R или продукт трансгена с антигенсвязывающим фрагментом (например, полученный в культуре клеток человека, в биореакторах и т. д.) можно вводить непосредственно субъекту.

[0132] В конкретных вариантах осуществления предложены способы лечения неинфекционного увеита или другой патологии, поддающихся лечению антителом к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R у нуждающегося в этом человека, включающие: введение в глаз (или печень и/или мышцу) указанного субъекта терапевтически эффективное количество рекомбинантного нуклеотидного вектора экспрессии, содержащего трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное мкАи к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R, имеющее область Fc, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или

более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ткани глаза человека, так что образуется депо, которое высвобождает чПМ форму мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент. Субретинальное, интравитреальное, интракамеральное или супрахориоидальное введение должно приводить к экспрессии растворимого продукта трансгена в одном или более из следующих типов клеток сетчатки: фоторецепторные клетки человека (колбочки, палочки); горизонтальные клетки; биполярные клетки; амакриновые клетки; ганглиозные клетки сетчатки (карликовые клетки, зонтичные клетки, двуслойные клетки, гигантские ганглиозные клетки сетчатки, светочувствительные ганглиозные клетки и мюллеровские глиальные клетки); и клетки пигментного эпителия сетчатки или другие клетки ткани глаза: клетки роговицы, клетки радужной оболочки, клетки цилиарного тела, клетки шлеммова канала, клетки трабекулярной сети, клетки ткани ПЭС-хориоидеи или клетки зрительного нерва.

[0133] Рекомбинантные векторы и фармацевтические композиции для лечения заболеваний или нарушений у субъекта, нуждающегося в этом, описаны в разделе 5.1. Такие векторы должны обладать тропностью к ткани глаза человека или к клеткам печени и/или мышц и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV2.7m8, AAV3B, AAV8, AAV9, AAV10, AAVrh10 или AAVrh73. Рекомбинантные векторы можно вводить любым способом так, чтобы рекомбинантный вектор проникал в клетки ткани глаза, например, путем введения рекомбинантного вектора в глаз. Такие векторы должны дополнительно содержать одну или более регуляторных последовательностей, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ткани глаза человека и/или клетках печени и мышц человека, включая, но не ограничиваясь ими, промотор родопсинкиназы человека (GRK1) (SEQ ID NO:77) или 217), промотор аррестина колбочек мыши (CAR) (SEQ ID NO: 214-216), промотор красного опсина человека (RedO) (SEQ ID NO: 212), промотор CAG (SEQ ID NO: 74), промотор CB или промотор CBlong (SEQ ID NO: 273 или 274) или тандемный промотор Best1/GRK1 (SEQ ID NO: 275) (см. также таблицы 1 и 1a).

### **5.3.N-ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ, СУЛЬФАТИРОВАНИЕ ТИРОЗИНА И О-ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ**

[0134] Каждая из аминокислотных последовательностей (первичная последовательность) HuGlyFabs или чПМ Fab, чПМ мкАт и чПМ scFv, описанных в данном документе, содержит по меньшей мере один сайт, в котором происходит N-гликозилирование или сульфатирование тирозина (см. иллюстративную **Фиг. 5**) для положений гликозилирования и/или сульфатирования в аминокислотных последовательностях фрагментов Fab терапевтических антител). Посттрансляционная

модификация также происходит в домене Fc полноразмерных антител, особенно в остатке N297 (по нумерации EU, см. **таблицу 6**).

[0135] Альтернативно, мутации могут быть введены в домен Fc для изменения сайта гликозилирования по остатку N297 (нумерация EU, см. **таблицу 6**), в частности, путем замены аспарагина на 297 или треонина на 299 другой аминокислотой для удаления сайта гликозилирования, что приводит к образованию агликозилированного домена Fc.

### **5.3.1. N-гликозилирование**

#### *Сайты обратного гликозилирования*

[0136] Каноническая последовательность N-гликозилирования, как известно в данной области техники, представляет собой Asn-X-Ser (или Thr), где X может быть любой аминокислотой, кроме Pro. Однако недавно было продемонстрировано, что остатки аспарагина (Asn) человеческих антител могут быть гликозилированы в контексте обратного консенсусного мотива, Ser (или Thr)-X-Asn, где X может быть любой аминокислотой, кроме Pro. См. Valliere-Douglass et al., 2009, J. Biol. Chem. 284:32493-32506; and Valliere-Douglass et al., 2010, J. Biol. Chem. 285:16012-16022. Как раскрыто в данном документе, определенные HuGlyFab и чПМ scFv, раскрытые в данном документе, содержат такие обратные консенсусные последовательности.

#### *Неконсенсусные сайты гликозилирования*

[0137] В дополнение к сайтам обратного N-гликозилирования недавно было продемонстрировано, что остатки глутамина (Gln) человеческих антител могут быть гликозилированы в контексте неконсенсусного мотива Gln-Gly-Thr. См. Valliere-Douglass et al., 2010, J. Biol. Chem. 285:16012-16022. Удивительно, но некоторые из описанных в данном документе фрагментов HuGlyFab содержат такие неконсенсусные последовательности. Кроме того, O-гликозилирование включает добавление ферментом N-ацетилгалактозамина к остаткам серина или треонина. Было продемонстрировано, что аминокислотные остатки, присутствующие в шарнирной области антител, могут быть O-гликозилированы. Возможность O-гликозилирования дает еще одно преимущество терапевтическим антителам, представленным в данном документе, по сравнению, например, с антигенсвязывающими фрагментами, продуцируемыми в *E. coli*, опять же потому, что *E. coli* в природе не имеет механизмов, эквивалентных тем, которые используются в O-гликозилировании в организме человека. (Вместо этого O-гликозилирование в *E. coli* было продемонстрировано только тогда, когда бактерии были модифицированы, чтобы иметь специфический механизм O-гликозилирования. См., например, Farid-Moayer et al., 2007, J. Bacteriol. 189:8088-8098.)

#### *Сконструированные сайты N-гликозилирования*

[0138] В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая чПМ мкАт, HuGlyFab или чПМ scFv, модифицирована для включения 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более сайтов N-гликозилирования (включая каноническую консенсусную последовательность N-гликозилирования, сайт обратного N-гликозилирования и неконсенсусные сайты N-гликозилирования), которые обычно связаны с чПМ мкАт, HuGlyFab или чПМ scFv (например, относительно количества сайтов N-гликозилирования, связанных с чПМ мкАт, HuGlyFab или чПМ scFv в неизменном состоянии). В конкретных вариантах осуществления введение сайтов гликозилирования осуществляется путем вставки сайтов N-гликозилирования (включая каноническую консенсусную последовательность N-гликозилирования, сайт обратного N-гликозилирования и неконсенсусные сайты N-гликозилирования) в любом месте первичной структуры антигенсвязывающего фрагмента при условии, что указанное введение не влияет на связывание антитела или антигенсвязывающего фрагмента с его антигеном. Введение сайтов гликозилирования может осуществляться, например, путем добавления новых аминокислот к первичной структуре антигенсвязывающего фрагмента или антитела, из которого происходит антигенсвязывающий фрагмент (например, сайты гликозилирования добавляются полностью или частично), или путем мутации существующих аминокислот в антигенсвязывающем фрагменте или антителе, из которого происходит антигенсвязывающий фрагмент, для создания сайтов N-гликозилирования (например, аминокислоты не добавляются к антигенсвязывающему фрагменту / антителу, но выбранные аминокислоты антигенсвязывающего фрагмента / антитела подвергаются мутации с образованием сайтов N-гликозилирования). Специалисты в данной области поймут, что аминокислотная последовательность белка может быть легко модифицирована с использованием подходов, известных в данной области техники, например, рекомбинантных подходов, которые включают модификацию последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей белок.

[0139] В конкретном варианте осуществления HuGlyMab или антигенсвязывающий фрагмент модифицирован таким образом, что при экспрессии в клетках млекопитающих, таких как клетки сетчатки, ЦНС, печени или мышц, он может быть гипергликозилирован. См. Courtois et al., 2016, mAbs 8: 99-112, который полностью включен в данный документ посредством ссылки.

#### ***N-гликозилирование чПМ мкАт и чПМ антигенсвязывающих фрагментов***

[0140] В отличие от низкомолекулярных лекарственных средств, биопрепараты обычно включают смесь многих вариантов с различными модификациями или формами, которые могут иметь различную эффективность, фармакокинетику и/или профиль

безопасности. Необязательно, чтобы каждая молекула, полученная с помощью генной терапии или протеинотерапии, была полностью гликозилирована и сульфатирована. Точнее, совокупность продуцируемых гликопротеинов должна иметь достаточное гликозилирование (включая 2,6-сиалирование) и сульфатирование, чтобы продемонстрировать эффективность. Целью генной терапии, представленной в данном документе, может быть, например, замедление или остановка прогрессирования заболевания или патологического состояния или уменьшение тяжести одного или более симптомов, связанных с заболеванием или патологическим состоянием.

[0141] Когда чПМ мкАт, HuGlyFab или чПМ scFv экспрессируются в клетке человека, сайты N-гликозилирования антигенсвязывающего фрагмента могут быть гликозилированы различными гликанами. N-гликаны антигенсвязывающих фрагментов и домена Fc были охарактеризованы в данной области техники. Например, Bondt et al., 2014, *Mol. & Cell. Proteomics* 13.11:3029-3039 (включенный в данный документ посредством ссылки в полном объеме для раскрытия Fab-ассоциированных N-гликанов; см. также Фиг. 22) характеризует гликаны, связанные с Fab, и демонстрирует, что Fab- и Fc-части антител имеют различные профили гликозилирования, причем гликаны Fab имеют высокий уровень галактозилирования, сиалирования и ветвления (например, GlcNAc в точках ветвления), но низкий уровень фукозилирования по отношению к гликанам Fc. Подобно Bondt, Huang et al., 2006, *Anal. Biochem.* 349: 197-207 (включенный в данный документ посредством ссылки в полном объеме для раскрытия Fab-ассоциированных N-гликанов) обнаружил, что большинство гликанов Fab являются сиалилированными. Однако в Fab антитела, исследованного Huang (который был продуцирован на фоне клеток мыши), идентифицированные сиаловые остатки представляли собой N-гликолилнейраминовую кислоту («Neu5Gc» или «NeuGc») (которая не является естественной для человека) вместо N-ацетилнейраминовой кислоты («Neu5Ac», преобладающая сиаловая кислота человека). Кроме того, Song et al., 2014, *Anal. Chem.* 86: 5661-5666 (полностью включенная в данный документ посредством ссылки для описания Fab-ассоциированных N-гликанов) описывает библиотеку N-гликанов, связанных с коммерчески доступными антителами.

[0142] Гликозилирование домена Fc было охарактеризовано и представляет собой единственный N-связанный гликан по аспарагину 297 (нумерация EU; см. **таблицу 6**). Гликан играет интегральную структурную и функциональную роль, влияя на эффекторную функцию антитела, такую как связывание с Fc-рецептором (см., например, Jennewein and Alter, 2017, *Trends In Immunology* 38: 358, где обсуждается роль гликозилирования Fc в функции антитела). Удаление гликана области Fc почти полностью устраняет эффекторную функцию (Jennewien and Alter at 362). Было показано, что состав гликана Fc влияет на

эффекторную функцию, например, было показано, что гипергалактозилирование и снижение фукозилирования увеличивает активность АЗКЦ, в то время как сиалирование коррелирует с противовоспалительными эффектами (*Id.* at 364). Течение заболевания, генетика и даже диета могут влиять на состав гликана Fc *in vivo*. Для рекомбинантно экспрессируемых антител состав гликанов может значительно отличаться в зависимости от типа клетки-хозяина, используемой для рекомбинантной экспрессии, и доступны стратегии для контроля и модификации состава гликана в терапевтических антителах, рекомбинантно экспрессируемых в культуре клеток, таких как CHO, для изменения эффекторной функции. (см., например, US 2014/0193404 Hansen et al.). Соответственно, чПМ мкАт, представленные в данном документе, могут преимущественно иметь гликан по N297, который больше похож на нативный состав гликанов у человека, чем на антитела, экспрессируемые в нечеловеческих клетках-хозяевах.

[0143] Важно отметить, что когда чПМ мкАт, HuGlyFab или чПМ scFv экспрессируются в клетках человека, необходимость в продукции *in vitro* в прокариотических клетках-хозяевах (например, *E. coli*) или эукариотических клетках-хозяевах (например, клетках CHO или клетках NS0) устраняется. Вместо этого, в результате описанных в данном документе способов сайты N-гликозилирования чПМ мкАт, HuGlyFab или чПМ scFv преимущественно модифицируются гликанами, подходящими для лечения людей и полезными для них. Такое преимущество недостижимо, если в получении антитела / антигенсвязывающего фрагмента используются клетки CHO, клетки NS0 или *E. coli*, потому что, например, клетки CHO (1) не экспрессируют 2,6-сиалилтрансферазу и, таким образом, не могут добавлять 2,6 сиаловую кислоту во время N-гликозилирования; (2) могут добавить Neu5Gc в качестве сиаловой кислоты вместо Neu5Ac; и (3) могут также продуцировать иммуногенный гликан, антиген  $\alpha$ -Gal, который реагирует с антителами к  $\alpha$ -Gal, присутствующими у большинства людей, которые в высоких концентрациях могут вызывать анафилаксию; и потому что (4) *E. coli* в природе не содержит компонентов, необходимых для N-гликозилирования.

[0144] Анализы для определения характера гликозилирования антител, включая антигенсвязывающие фрагменты, известны в данной области техники. Например, гидразинолиз можно использовать для анализа гликанов. Во-первых, полисахариды высвобождаются из связанного с ними белка путем инкубации с гидразином (можно использовать набор Ludger Liberate Hydrazinolysis Glycan Release, Оксфордшир, Великобритания). Нуклеофильный гидразин атакует гликозидную связь между полисахаридом и белком-носителем и позволяет высвободить присоединенные гликаны. N-ацетильные группы теряются во время этой обработки и должны быть восстановлены

путем повторного N-ацетилирования. Гликаны также могут высвободиться с использованием ферментов, таких как гликозидазы или эндогликозидазы, такие как ПНГаза F и эндогликозидаза H, которые расщепляются чисто и с меньшим количеством побочных реакций, чем гидразины. Свободные гликаны могут быть очищены на угольных колонках и впоследствии помечены на восстанавливающем конце с флуорофором 2-аминобензамидом. Меченые полисахариды могут быть разделены на колонке GlycoSep-N (GL Sciences) в соответствии с протоколом ВЭЖХ Royle et al, Anal Biochem 2002, 304(1):70-90. Полученная флуоресцентная хроматограмма демонстрирует длину полисахарида и количество повторяющихся звеньев. Структурная информация может быть собрана путем сбора индивидуальных пиков и последующего анализа методом МС/МС. Таким образом, моносахаридный состав и последовательность повторяющихся звеньев могут быть подтверждены и, кроме того, может быть идентифицирована гомогенность полисахаридного состава. Конкретные пики с низкой или высокой молекулярной массой можно анализировать с помощью МАЛДИ-МС/МС, а результат использовать для подтверждения гликановой последовательности. Каждый пик на хроматограмме соответствует полимеру, например, гликану, состоящему из определенного числа повторяющихся звеньев и их фрагментов, например остатков сахара. Таким образом, хроматограмма позволяет измерить распределение длины полимера, например, гликана. Время элюирования является показателем длины полимера, в то время как интенсивность флуоресценции коррелирует с молярным содержанием для соответствующего полимера, например, гликана. Другие способы оценки гликанов, связанных с антигенсвязывающими фрагментами, включают способы, описанные Bondt et al., 2014, Mol. & Cell. Proteomics 13.11:3029-3039, Huang et al., 2006, Anal. Biochem. 349:197-207, и/или Song et al., 2014, Anal. Chem. 86:5661-5666.

[0145] Гомогенность или гетерогенность гликановых профилей, связанных с антителами (включая антигенсвязывающие фрагменты), поскольку это относится как к длине или размеру гликанов, так и к количеству гликанов, присутствующих в сайтах гликозилирования, можно оценить с помощью способов, известных в данной области техники, например, способов, при помощи которых измеряют длину или размер и гидродинамический радиус гликана. ВЭЖХ, такая как гель-фильтрация, нормальная фаза, обращенная фаза и анионообменная ВЭЖХ, а также капиллярный электрофорез позволяют измерять гидродинамический радиус. Более высокое количество сайтов гликозилирования в белке приводит к большему изменению гидродинамического радиуса по сравнению с носителем с меньшим количеством сайтов гликозилирования. Однако при анализе одиночных гликановых цепей они могут быть более гомогенными из-за более

контролируемой длины. Длина гликана может быть измерена с помощью гидразинолиза, ДСН-ПААГ-электрофореза и капиллярного гель-электрофореза. Кроме того, гомогенность также может означать, что определенные профили использования сайтов гликозилирования изменяются в сторону более широкого / узкого диапазона. Эти факторы можно измерить с помощью ЖХ-МС/МС гликопептида.

[0146] В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт или их антигенсвязывающие фрагменты также не содержат детектируемого NeuGc и/или  $\alpha$ -Gal. Под «детектируемым NeuGc», «детектируемым  $\alpha$ -Gal» или «не содержит или не имеет NeuGc или  $\alpha$ -Gal» в данном документе подразумевается, что чПМ мкАт или антигенсвязывающий фрагмент не содержит фрагментов NeuGc или  $\alpha$ -Gal, обнаруживаемых с помощью стандартных способов анализа, известные в данной области техники. Например, NeuGc может быть обнаружен с помощью ВЭЖХ согласно Hara et al., 1989, “Highly Sensitive Determination of *N*-Acetyl- and *N*-Glycolylneuraminic Acids in Human Serum and Urine and Rat Serum by Reversed-Phase Liquid Chromatography with Fluorescence Detection.” *J. Chromatogr., B: Biomed.* 377, 111–119, который включен в данный документ посредством ссылки для способа обнаружения NeuGc. В качестве альтернативы NeuGc может быть обнаружен при помощи масс-спектрометрии.  $\alpha$ -Gal может быть обнаружен с помощью ИФА, см., например, Galili et al., 1998, “A sensitive assay for measuring  $\alpha$ -Gal epitope expression on cells by a monoclonal anti-Gal antibody.” *Transplantation.* 65(8):1129-32, или с помощью масс-спектрометрии, см., например, Ayoub et al., 2013, “Correct primary structure assessment and extensive glyco-profiling of cetuximab by a combination of intact, middle-up, middle-down and bottom-up ESI and MALDI mass spectrometry techniques.” *Landes Bioscience.* 5(5):699–710. Также ссылки, цитируемые в Platts-Mills et al., 2015, “Anaphylaxis to the Carbohydrate Side-Chain Alpha-gal” *Immunol Allergy Clin North Am.* 35(2): 247–260.

#### ***Преимущества N-гликозилирования***

[0147] N-гликозилирование дает многочисленные преимущества для чПМ мкАт, HuGlyFab или чПМ scFv, описанных в данном документе. Такие преимущества недостижимы при продукции антигенсвязывающих фрагментов в *E. coli*, потому что *E. coli* в природе не обладает компонентами, необходимыми для N-гликозилирования. Кроме того, некоторые преимущества недостижимы посредством продукции антител, например, в клетках CHO (или мышинных клетках, таких как клетки NS0), потому что в клетках CHO отсутствуют компоненты, необходимые для добавления определенных гликанов (например, 2,6-сиаловой кислоты и GlcNAc в точках ветвления) и потому что либо CHO, либо мышинные линии клеток добавляют N-N-гликолилнейраминую кислоту («Neu5Gc» или «NeuGc»), которая не является естественной для человека (и потенциально иммуногенной),

вместо N-ацетилнейраминовой кислоты («Neu5Ac»), преобладающей сиаловой кислоты человека. См., например, Dumont et al., 2015, Crit. Rev. Biotechnol. 36(6):1110-1122; Huang et al., 2006, Anal. Biochem. 349:197-207 (NeuGc является преобладающей сиаловой кислотой в линиях мышечных клеток, таких как SP2/0 и NS0); а также Song et al., 2014, Anal. Chem. 86:5661-5666, каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки). Более того, клетки CHO могут также продуцировать иммуногенный гликан, антиген  $\alpha$ -Gal, который реагирует с антителами к  $\alpha$ -Gal, присутствующими у большинства людей, которые в высоких концентрациях могут вызывать анафилаксию. См., например, Bosques, 2010, Nat. Biotech. 28:1153-1156. Человеческий профиль гликозилирования HuGlyFab из чПМ scFv, описанный в данном документе, должен снижать иммуногенность продукта трансгена и повышать эффективность.

[0148] Хотя неканонические сайты гликозилирования, как правило, приводят к низкому уровню гликозилирования (например, 1-5%) популяции антител, функциональные преимущества могут быть значительными (см., например, van de Vovenkamp et al., 2016, J. Immunol. 196:1435-1441). Например, гликозилирование Fab может влиять на стабильность, время полужизни и характеристики связывания антитела. Для определения эффектов гликозилирования Fab на аффинность антитела к его мишени можно использовать любой способ, известный специалисту в данной области техники, например, иммуноферментный анализ (ИФА) или поверхностный плазмонный резонанс (ППР). Для определения эффектов гликозилирования Fab на время полужизни антитела можно использовать любую методику, известную специалисту в данной области техники, например, путем измерения уровней радиоактивности в крови или органах у субъекта, у которого было введено радиоактивно меченное антитело. Для определения эффектов гликозилирования Fab на стабильность, например, уровни агрегации или разворачивания белка, антитела, может быть использован любой способ, известный специалисту в данной области техники, например, дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), например, эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография (ЭХ-ВЭЖХ), капиллярный электрофорез, масс-спектрометрия или измерение мутности.

[0149] Присутствие сиаловой кислоты на чПМ мкАт, HuGlyFab или чПМ scFv, используемых в описанных в данном документе способах, может повлиять на скорость клиренса чПМ мкАт, HuGlyFab или чПМ scFv. Соответственно, образцы сиаловой кислоты для чПМ мкАт, HuGlyFab или чПМ scFv можно использовать для создания терапевтического средства с оптимизированной скоростью клиренса. Способы оценки скорости клиренса антигенсвязывающего фрагмента известны в данной области техники.

*См., например, Huang et al., 2006, Anal. Biochem. 349:197-207.*

[0150] В еще одном конкретном варианте осуществления преимущество, обеспечиваемое N-гликозилированием, представляет собой снижение агрегации. Занятые сайты N-гликозилирования могут маскировать склонные к агрегации аминокислотные остатки, что приводит к снижению агрегации. Такие сайты N-гликозилирования могут быть нативными для антигенсвязывающего фрагмента, используемого в данном документе, или могут быть встроены в антигенсвязывающий фрагмент, используемый в данном документе, в результате чего HuGlyFab или чПМ scFv менее склонны к агрегации при экспрессии, например, экспрессии в клетках человека. Способы оценки агрегации антител известны в данной области техники. *См., например, Courtois et al., 2016, mAbs 8:99-112, который полностью включен в данный документ посредством ссылки.*

[0151] В еще одном конкретном варианте осуществления преимущество, обеспечиваемое N-гликозилированием, представляет собой снижение иммуногенности. Такие сайты N-гликозилирования могут быть нативными для антигенсвязывающего фрагмента, используемого в данном документе, или могут быть встроены в антигенсвязывающий фрагмент, используемый в данном документе, в результате чего чПМ мкАт, HuGlyFab или чПМ scFv менее склонны к иммуногенности при экспрессии, например, экспрессии в клетках ткани глаза человека, клетках ЦНС человека, клетках печени человека или клетки мышц человека.

[0152] В еще одном конкретном варианте осуществления преимуществом, обеспечиваемым N-гликозилированием, является стабильность белка. Хорошо известно, что N-гликозилирование белков придает им стабильность, и в данной области техники известны способы оценки стабильности белков, возникающих в результате N-гликозилирования. *См., например, Sola and Griebenow, 2009, J Pharm Sci., 98(4): 1223–1245.*

[0153] В еще одном конкретном варианте осуществления преимущество, обеспечиваемое N-гликозилированием, представляет собой измененную аффинность связывания. В данной области известно, что присутствие сайтов N-гликозилирования в переменных доменах антитела может увеличивать аффинность антитела к его антигену. *См., например, Vovenkamp et al., 2016, J. Immunol. 196:1435-1441.* В данной области техники известны анализы для измерения аффинности связывания антител. *См., например, Wright et al., 1991, EMBO J. 10:2717-2723; and Leibiger et al., 1999, Biochem. J. 338:529-538.*

### **5.3.2 Сульфатирование тирозина**

[0154] Сульфатирование тирозина происходит по остаткам тирозина (Y) с глутаматом (E) или аспартатом (D) в пределах от +5 до -5 положения Y, и где положение -1 Y представляет собой нейтральную или кислотно заряженную аминокислоту, но не

основную аминокислоту, например, аргинин (R), лизин (K) или гистидин (H), которые исключают сульфатирование. HuGlyFab и чПМ scFv, описанные в настоящем документе, содержат сайты сульфатирования тирозина (см. иллюстративную Фиг. 2).

[0155] Важно отметить, что сульфатированные по тирозину антигенсвязывающие фрагменты не могут продуцироваться в *E. coli*, которая, естественно, не обладает ферментами, необходимыми для сульфатирования тирозина. Кроме того, клетки CHO недостаточны для сульфатирования тирозина, они не являются секреторными клетками и обладают ограниченной способностью к посттрансляционному сульфатированию тирозина. См., например, Mikkelsen & Ezban, 1991, *Biochemistry* 30: 1533-1537. Преимущественно способы, представленные в данном документе, требуют экспрессии чПМ Fab в клетках человека, которые являются секреторными и обладают способностью к сульфатированию тирозина.

[0156] Сульфатирование тирозина является предпочтительным по нескольким причинам. Например, было показано, что сульфатирование по тирозину антигенсвязывающего фрагмента терапевтических антител против мишеней резко увеличивает avidность к антигену и активность. См., например, Loos et al., 2015, *PNAS* 112: 12675-12680, and Choe et al., 2003, *Cell* 114: 161-170. Анализы для обнаружения сульфатирования по тирозину известны в данной области техники. См., например, Yang et al., 2015, *Molecules* 20:2138-2164.

### 5.3.3 O-гликозилирование

[0157] O-гликозилирование включает добавление ферментом N-ацетилгалактозамина к остаткам серина или треонина. Было продемонстрировано, что аминокислотные остатки, присутствующие в шарнирной области антител, могут быть O-гликозилированы. В определенных вариантах осуществления HuGlyFab включают всю или часть своей шарнирной области и, таким образом, способны к O-гликозилированию при экспрессии в клетках человека. Возможность O-гликозилирования дает еще одно преимущество HuGlyFab, представленным в данном документе, по сравнению, например, с антигенсвязывающими фрагментами, продуцируемыми в *E. coli*, опять же потому, что *E. coli* в природе не имеет механизмов, эквивалентных тем, которые используются в O-гликозилировании в организме человека. (Вместо этого O-гликозилирование в *E. coli* было продемонстрировано только тогда, когда бактерии были модифицированы, чтобы иметь специфический механизм O-гликозилирования. См., например, Farid-Moayer et al., 2007, *J. Bacteriol.* 189: 8088-8098.) O-гликозилированный HuGlyFab, благодаря наличию гликанов, имеет общие полезные характеристики с N-гликозилированным HuGlyFab (как обсуждалось выше).

#### 5.4 Конструкции чПМ анти-TNF $\alpha$ и составы для лечения неинфекционного увеита

[0158] Описаны композиции и способы доставки чПМ мкАт или его антигенсвязывающего фрагмента, такого как чПМ Fab, которые связываются с TNF $\alpha$ , полученные из антитела к TNF $\alpha$  и предназначенного для лечения неинфекционного увеита. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт имеет аминокислотную последовательность адалимумаба, инфликсимаба, голимумаба или их антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотная последовательность фрагмента Fab этих антител представлена на **Фиг. 2А-2С**. Доставка может осуществляться с помощью генной терапии, например, путем введения вирусного вектора или другой конструкции для экспрессии ДНК, кодирующей TNF $\alpha$ -связывающее чПМ мкАт (или его антигенсвязывающий фрагмент и/или его гипергликозилированное производное или другое производное) пациентам (субъектам-людям), у которых диагностирован неинфекционный увеит, чтобы создать постоянное депо, которое непрерывно обеспечивает чПМ, например, человеческий гликозилированный продукт трансгена.

##### *Трансгены*

[0159] Предложены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий чПМ мкАт или чПМ Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент чПМ мкАт), который связывается с TNF $\alpha$ , которые можно вводить для доставки чПМ мкАт или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывается с TNF $\alpha$ , как адалимумаб, инфликсимаб, или голимумаб, или их варианты, как подробно описано в данном документе. Трансген может также кодировать антигенсвязывающий фрагмент к TNF $\alpha$  который содержит дополнительные сайты гликозилирования (например, см. Courtois et al.).

[0160] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи части Fab адалимумаба (с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, см. **таблицу 7** и **Фиг. 2А**). Нуклеотидные последовательности могут быть оптимизированы по кодонам для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 26 (кодирует часть Fab тяжелой цепи адалимумаба) и SEQ ID NO: 27 (кодирует фрагмент Fab легкой цепи адалимумаба), как указано в **таблице 8**. Последовательности тяжелой и легкой цепей имеют сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ткани

глаза человека (например, клетках сетчатки) или клетках печени и/или мышц. Сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность MYRMQLLLLIASLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в **таблице 2**, которые соответствуют белкам, секретлируемым типами клеток ткани глаза. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в клетках мышц или клетках печени, таких как те, которые перечислены в **таблицах 3 и 4 ниже**.

[0161] В дополнение к последовательностям переменных доменов тяжелой и легкой цепей и доменов  $C_{H1}$  и  $C_L$  трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена  $C_{H1}$  тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен к TNF $\alpha$  имеет домен Fab тяжелой цепи SEQ ID NO: 1 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержит всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO:153), и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO:155), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO:156), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO:157), EPKSCDKTHLCPCPA (SEQ ID NO:158), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:159) или EPKSCDKTHLCPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:160), как показано на **Фиг. 2А**. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 26 последовательностями, кодирующими шарнирную область, приведенными в **таблице 7** (SEQ ID NO: 26). В еще одном варианте трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерную (или по существу полноразмерную) тяжелую и легкую цепи антитела, содержащие домен Fc на С-конце тяжелой цепи, например, имеющие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64 (**таблица 6**), или домен Fc IgG1, такой как, SEQ ID NO: 61 или как изображено на **Фиг. 6**, или их мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более рецепторами Fc и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

[0162] В конкретных вариантах осуществления предложены конструкции, кодирующие полноразмерный адалимумаб, включая домен Fc, в частности, нуклеотидную последовательность CAG.adalimumab.IgG (SEQ ID NO: 46, 47 или 48), GRK1.adalimumab.IgG (SEQ ID NO: 52 или 53), CB.VH4.adalimumab (SEQ ID NO: 276 или 277), Best1.GRK1.VH4.adalimumab или антигенсвязывающий фрагмент адалимумаба, в частности CAG.adalimumab.Fab (SEQ ID NO: 49 или 50), mU1a.adalimumab.Fab (SEQ ID NO: 224 или 225) и EF1a.adalimumab.Fab (SEQ ID NO: 222 или 223), как указано в **таблице 8**, в

некоторых случаях обеднены в отношении CpG-димеров. Трансген может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую сигнальный пептид MYRMQLLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 85); например, на N-конце тяжелой и/или легкой цепи), которая может кодироваться нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 86. Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, могут быть разделены линкером фурин-2A (SEQ ID NO:146-149, см. также аминокислотные последовательности SEQ ID NO:142 и 144) для создания бицистронного вектора. Альтернативно, нуклеотидные последовательности легкой цепи и тяжелой цепи разделены линкером фурин-T2A, таким как SEQ ID NO:145. Экспрессия адалимумаба может быть направлена конститутивным или тканеспецифическим промотором. В некоторых вариантах осуществления трансген содержит промотор CAG (SEQ ID NO: 74), промотор CB или промотор CB long (SEQ ID NO: 273 или 274), промотор GRK1 (SEQ ID NO: 77). Альтернативно, промотор может быть тканеспецифическим промотором (или регуляторной последовательностью, включающей промоторные и энхансерные элементы), такой как промотор GRK1 (SEQ ID NO: 77 или 217), (промотор аррестина колбочек мыши (CAR) (SEQ ID NO: 214-216), промотор красного опсина человека (RedO) (SEQ ID NO: 212) или тандемный промотор Best1/GRK1 (SEQ ID NO: 275). В вариантах осуществления последовательность интрона расположена между промотором и кодирующей последовательностью, например, последовательность интрона VH4 (SEQ ID NO: 70). Трансгены могут содержать элементы, представленные в **таблице 1** или **1a**. Иллюстративные трансгены, кодирующие полноразмерный адалимумаб, представлены в таблице 8 и включают CAG.Adalimumab.T2A (SEQ ID NO: 46-48); GRK1.Adalimumab (SEQ ID NO: 52 и 53). Последовательности ITR добавляются к 5'- и 3'-концам конструкций для создания геномов, включая pAAV.CB.VH4.adalimumab (SEQ ID NO: 277), pAAV.CBlong.VH4.adalimumab или pAAV.Best1.GRK1.VH4.adalimumab. Трансгены могут быть упакованы в AAV, особенно в AAV8.

[0163] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует антигенсвязывающий фрагмент TNF $\alpha$ , содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 2. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует антигенсвязывающий фрагмент к TNF $\alpha$ , содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с

последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 1. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 2, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 1. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к TNF $\alpha$  содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, а замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся за пределами CDR, которые подчеркнуты на **Фиг. 2А**). В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к TNF $\alpha$  содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотных замен, вставок или делеций, и замены, вставки или делеции выполнены, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся за пределами CDR, CDR которых подчеркнуты на **Фиг. 2А**).

[0164] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует гипергликозилированный Fab адалимумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L116N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. Фиг. 14А (тяжелая цепь) и 14В (легкая цепь)).

[0165] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR адалимумаба, которые подчеркнуты в последовательностях переменных доменов тяжелой и легкой цепей на **Фиг. 2А**, которые расположены между каркасными областями, как правило, каркасными областями человека, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области техники, для формирования переменного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0166] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи части Fab инфликсимаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ

ID NO. 3 и 4, соответственно, см. **таблицу 7** и **FIG. 2B**). Нуклеотидные последовательности могут быть оптимизированы по кодонам для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, включать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 28 (кодирующий часть Fab тяжелой цепи инфликсимаба) и SEQ ID NO: 29 (кодирующий часть Fab легкой цепи инфликсимаба), как указано в **таблице 8**. Последовательности тяжелой и легкой цепей имеют сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ткани глаза человека (например, клетках сетчатки) или клетках печени и/или мышц. Сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность MYRMQLLLLI~~AL~~SLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в **таблице 2**, которые соответствуют белкам, секретлируемым типами клеток ткани глаза. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в клетках мышц или клетках печени, таких как те, которые перечислены в **таблицах 3** и **4** ниже.

[0167] В дополнение к последовательностям переменных доменов тяжелой и легкой цепей и доменов C<sub>H1</sub> и C<sub>L</sub> трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C<sub>H1</sub> тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен к TNF $\alpha$  содержит домен Fab тяжелой цепи SEQ ID NO: 3 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержит всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO:153), и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO:155), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO:156), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO:157), EPKSCDKTHLCPAPELLGG (SEQ ID NO:158), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:159) или EPKSCDKTHLCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:160), как показано на **Фиг. 2B**. Эти шарнирные области могут кодироваться последовательностями нуклеотидов на 3'-конце SEQ ID NO: 28 последовательностями, кодирующими шарнирную область, представленными в **таблице 8** (SEQ ID NO: 28). В еще одном варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела, включающие домен Fc на C-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 (**таблица 7**) или домен Fc IgG1, такой как SEQ ID NO: 61 или показанный на **Фиг. 6**, или их мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более рецепторами Fc и/или эффекторной функцией, как описано

в разделе 5.1.9 ниже.

[0168] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует антигенсвязывающий фрагмент к TNF $\alpha$ , содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 4. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует антигенсвязывающий фрагмент к TNF $\alpha$ , содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 3. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 4, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 3. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к TNF $\alpha$  содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на Фиг. 2B) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9A. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к TNF $\alpha$  содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, а замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на Фиг. 2B) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9B.

[0169] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего

фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует гипергликозилированный Fab инфликсимаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 3 и 4, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T115N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. Фиг. 9A (тяжелая цепь) и 9B (легкая цепь)).

[0170] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR инфликсимаба, которые подчеркнуты в последовательностях переменных доменов тяжелой и легкой цепей на Фиг. 2B, которые расположены между каркасными областями, как правило, каркасными областями человека, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области техники, для формирования переменного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0171] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи части Fab голимумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 5 и 6, соответственно, см. **таблицу 7** и **Фиг. 2C**). Нуклеотидные последовательности могут быть оптимизированы по кодонам для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, включать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 30 (кодирующие часть Fab тяжелой цепи голимумаба) и SEQ ID NO: 31 (кодирующие часть Fab легкой цепи голимумаба), как указано в **таблице 6**. Последовательности тяжелой и легкой цепей имеют сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ткани глаза человека (например, клетках сетчатки) или клетках печени и/или мышц. Сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность MYRMQLLLLI~~AL~~SLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в **таблице 2**, которые соответствуют белкам, секретиремым типами клеток ткани глаза. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в клетках мышц или клетках печени, таких как те, которые перечислены в **таблицах 3** и **4** ниже.

[0172] В дополнение к последовательностям переменных доменов тяжелой и легкой цепей и доменов C<sub>H</sub>1 и C<sub>L</sub> трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C<sub>H</sub>1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления связывающий антигенсвязывающий домен к TNF $\alpha$  содержит переменный домен тяжелой цепи SEQ ID NO: 5 с дополнительной

последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержит всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO:153), и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO:155), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO:156), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO:157), EPKSCDKTHLCPAPELLGG (SEQ ID NO:158), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:159) или EPKSCDKTHLCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:160), как показано на **Фиг. 2С**. Эти шарнирные области могут кодироваться последовательностями нуклеотидов на 3'-конце SEQ ID NO: 30 последовательностями, кодирующими шарнирную область, представленными в **таблице 8** (SEQ ID NO: 30). В еще одном варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полную (или по существу полную) тяжелую и легкую цепи антитела, включающие домен Fc на С-конце тяжелой цепи, например, имеющие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66 (**таблица 6**) или домен Fc IgG1, такой как SEQ ID NO: 61 или показанный на **Фиг. 6**, или их мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более рецепторами Fc и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

[0173] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует антигенсвязывающий фрагмент к TNF $\alpha$ , содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 6. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует антигенсвязывающий фрагмент к TNF $\alpha$ , содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 5. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 6, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 5. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к TNF $\alpha$  содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID

NO: 5 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на Фиг. 2С) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 149А. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к TNF $\alpha$  содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на Фиг. 2С) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9В.

[0174] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует гипергликозилированный Fab голимумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 5 и 6, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T124N (тяжелая цепь), Q164N или Q164S (легкая цепь) и/или E199N (легкая цепь) (см. Фиг. 9А (тяжелая цепь) и 9В (легкая цепь)).

[0175] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к TNF $\alpha$  кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR голимумаба, которые подчеркнуты в последовательностях переменных доменов тяжелой и легкой цепей на Фиг. 2С, которые расположены между каркасными областями, как правило, каркасными областями человека, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области техники, для формирования переменного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающего фрагмента. В **таблице 7** представлены аминокислотные последовательности тяжелой и легкой цепей Fab, полноразмерной тяжелой цепи адалимумаба и аминокислотной последовательности продукта трансляции полноразмерного и Fab адалимумаба (SEQ ID NO: 1, 2, 23, 24, 25). В **таблице 8** представлена нуклеотидная последовательность, кодирующая тяжелую и легкую цепи Fab антител, описанных в данном документе, полноразмерную тяжелую цепь адалимумаба, кассеты экспрессии и геномы.

**Таблица 7. Аминокислотные последовательности тяжелых и легких цепей**

мкАт	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
Адалимум аб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 1	EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCAASGFTFD DYAMHWVRQA PGKGLEWVSA ITWNSGHIDY ADSVEGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAKVS YLSTASSLDY WGQGTSLTVS <u>SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV</u> <u>SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ</u> <u>TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCD</u> +/- КТНТ (или КТНЛ) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Адалимум аб	Легкая/ SEQ ID NO: 2	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NYLAWYQQKP GKAPKLLIYA ASTLQSGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCQR YNRAPYTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Инфликси маб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 3	EVKLEESGGG LVQPGGSMKL SCVASGFIFS NHWMNWVRQS PEKGLEWVAE IRSKSINSAT HYAESVKGRF TISRDDSKSA VYLQMTDLRT EDTGVYYCSR NYYGSTYDYW GQGTTTLTVSS <u>ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS</u> <u>WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT</u> <u>YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCD</u> +/- КТНТ (или КТ НЛ)+/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Инфликси маб	Легкая/ SEQ ID NO: 4	DILLTQSPA I LSVSPGERVS FSCRASQFVG SSIHWYQQRT NGSPRLLIKY ASESMSGIPS RFGSGSGTD FTLSINTVES EDIADYYCQQ SHSWPFTFGS GTNLEVKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Голимума	Тяжелая	SKLQVQLVES GGGVVQPGRS LRLSCAASGF IFSSYAMHWV

мкАт	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
б	я/ SEQ ID NO: 5	RQAPGNLEW VAFMSYDGSN KKYADSVKGR FTISRDN SKN TLYLQMNSLR AEDTAVYYCA RDRGIAAGGN YYYYGMDVWG QGTTVTVSSA <u>STKGPSVFPL APSSKSTSGG</u> <u>TAALGCLVKD YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPVAVLQSSG</u> <u>LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK</u> <u>SCD</u> +/- КТ НТ (или КТНЛ) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Голимума б	Легкая/ SEQ ID NO: 6	AGSEIVLTQS PATLSLSPGE RATLSCRASQ SVYSYLA WYQ QKPGQAPRLI IYDASN RATG IPARFSGSGS GTDFTLTISS LEPEDFAVYY CQQRSNWPPF TFGPGTKVDI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSL S TLTL SKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
Сатрализу маб	Тяжелая/ SEQ ID NO: 7	QVQLQESGPG LVKPSETLSL TCAVSGHSIS HDHAWSWVRQ PPGEGLEWIG FISYSGITNY NPSLQGRVTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARSL ARTTAMDYWG EGTLVTVSSA <u>STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW</u> <u>NSGALTSGVH TFPVAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSNFGTQTY</u> <u>TCNVDHKPSN TKVDK TVERK SCVE</u> +/- CPPCPA +/- P PVAG
Сатрализу маб	Легкая/ SEQ ID NO: 8	DIQMTQSPSS LSASVGD SVT ITCQASTDIS SHLNWYQQKP GKAPELLIYY GSHLLSGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLEA EDAATYYCGQ GNRLPYTFGQ GTKVEIERTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLN NFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSL SSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Сарилума	Тяжелая	EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCAASRFTFD DYAMHWVRQA

мкАт	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
б	я/ SEQ ID NO: 9	PGKGLEWVSG ISWNSGRIGY ADSVKGRFTI SRDNAENSLF LQMNGLRAED TALYYCAKGR DSFDIWGQGT MVTVSSASTK <u>GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG</u> <u>ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN</u> <u>VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD</u> +/- КТНТ (или КТНЛ)+ /- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Сарилума б	Легкая/ SEQ ID NO: 10	DIQMTQSPSS VSASVGDRVIT ITCRASQGIS SWLAWYQQKP GKAPKLLIYG ASSLESGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFASYCQQ ANSFPYTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
Силтукси маб	Тяжела я/ SEQ ID NO: 11	EVQLVESGGK LLKPGGSLKL SCAASGFTFS SFAMSWFRQS PEKRLEWVAE ISSGGSYTYYPDTVTGRFTI SRDNAKNTLY LEMSSLRSED TAMYYCARGL WGYALDYWG QGTSVTVSSA <u>STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD</u> <u>YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TPAVLQSSG LYSLSSVTV</u> <u>PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCD</u> +/- КТНТ (или КТНЛ) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Силтукси маб	Тяжела я/ SEQ ID NO: 12	QIVLIQSPAI MSASPGEKVT MTCSASSSVS YMYWYQQKPG SSPRLIYDT SNLASGVPVR FSGSGSGTSY SLTISRMEAE DAATYYCQQW SGYPYTFGGG TKLEIKRTVA <u>APSVFIFPPS</u> <u>DEQLKSGTAS VVCLLNNFYYP REAKVQWKVD NALQSGNSQE</u> <u>SVTEQDSKDS TYSLSSTLT SKADYKHKV YACEVTHOGL</u> <u>SSPVTKSFNR GEC</u>
Клазакизу маб	Тяжела я/ SEQ	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFSLNYYVTWVRQA PGKGLEWVGI IYGSDETAYA TSAIGRFTIS RDNSKNTLYL

мкАт	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
	ID NO: 13	QMNSLRAEDT AVYYCARDDS SDWDAKFNLW GQGTLVTVSS <u>ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK</u> <u>DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT</u> <u>VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRVEP KSCD +/- KTHT</u> (или KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Клазакизу маб	Легкая/ SEQ ID NO: 14	AIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQSIN NELSWYQQKP GKAPKLLIYR ASTLASGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP DDFATYYCQQ GYSLRNIDNA FGGGTKVEIK <u>RTVAAPSVFI</u> <u>FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG</u> <u>NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT</u> <u>HQGLSSPVTK SFNRGEC</u>
Сирукума б	Тяжелая/ SEQ ID NO: 15	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS PFAMSWVRQA PGKGLEWVAK ISPGGSWTYY SDTVTGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAEDTAVYYCARQL WGYALDIWG QGTTVTVSSA <u>STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW</u> <u>NSGALTSGVH TPAVLQSSG LYSLSVVTV PSSSLGTQTY</u> <u>ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCD +/- KTHT (или KTHL) +/-</u> CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Сирукума б	Легкая/ SEQ ID NO: 16	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCSASISVS YMYWYQQKPG QAPRLLIYDM SNLASGIPAR FSGSGSGTDF TLTISSELEPE DFAVYYCMQW SGYPYTFGGG TKVEIKRTVA APSVFIFFPS <u>DEQLKSGTAS VVCLLNNFYF REAKVQWKVD NALQSGNSQE</u> <u>SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEEKHKV YACEVTHQGL</u> <u>SSPVTKSFNR GEC</u>
Олокизум аб	Тяжелая/ SEQ ID NO:	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNFN DYFMNWVRQA PGKGLEWVAQ MRNKNYQYGT YYAESLEGRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCAR ESYYGFTSYW GQGTLVTVSS

мкАт	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
	17	<u>ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS</u> <u>WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT</u> <u>YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KY</u> +/- GPPCPPCPA (или GPPCPSCPA) +/- PEFLGGPSVFL
Олокизум аб	Легкая/ SEQ ID NO: 18	<u>DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCQASQDIG ISLSWYQQKP</u> <u>GKAPKLLIYN ANNLADGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP</u> <u>EDFATYYCLQ HNSAPYTFGQ GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP</u> <u>SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ</u> <u>ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG</u> <u>LSSPVTKSFN RGEC</u>
Герилизум аб	Тяжела я/ SEQ ID NO: 19	<u>EVQLQESGPG LVKPSQTLST TCTVSGGSIT SRYAWSWIR</u> <u>QPPGKGLEWI GVIDYDGDY YPSLKSQVTS ISWDTSKNQF</u> <u>SLKLSSVTPA DTAVYYCARD PDVVTGFHYD YWGQGTMTVTV</u> <u>SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL VKDYFPEPVT</u> <u>VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPSSSLGT</u> <u>QTYICNVNHK PSNTKVDKQV EPKSCD</u> +/- КТНТ (или КТНЛ) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL
Герилизум аб	Легкая/ SEQ ID NO: 20	<u>QSALTQPPSV SGTPGQSVTI SCAGANNIDG TYAYVSWYQQ</u> <u>LPGTAPKLMV YKVTTRASGI PDRFSGSKSG NTASLTISGL</u> <u>QAEDEADYYC ASYRNFNNAV FGTGKLTVL GQPKAAPSVT</u> <u>LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADSSPVK</u> <u>AGVETTPSK QSNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT</u> <u>HEGSTVEKTV APTECS</u>
Тоцилизу маб	Тяжела я/ SEQ ID NO: 21	<u>QVQLQESGPG LVRPSQTLST TCTVSGYSIT SDHAWSWVRQ</u> <u>PPGRGLEWIG YISYSGITTY NPSLKSQVTS LRDTSKNQFS</u> <u>LRLSSVTAAD TAVYYCARSL ARTTAMDYWG QGSLVTVSSA</u> <u>STKGPSVFPPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTVSW</u>

мкАт	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<u>NSGALTSGVH TPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY</u> <u>ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCD +/- KTHT (или KTHL) +/-</u> <u>CPPCPA +/- PELLGGPSVFL</u>
Тоцилизу маб	Легкая/ SEQ ID NO: 22	<u>DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS SYLNWYQQKP</u> <u>GKAPKLLIYY TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD FTFTISLQP</u> <u>EDIATYYCQQ GNTLPYTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP</u> <u>SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ</u> <u>ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG</u> <u>LSSPVTKSFN RGEN</u>
Тяжелая цепь адалимума ба (Fc IgG1: CH1- шарнир- CH2)	Тяжелая/ SEQ ID NO: 23	<u>EVQLVESGGGL VQPGRSLRLS CAASGFTFDDYAMHWVRQAP</u> <u>GKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV EGRFTISRDN AKNSLYLQM</u> <u>NSLRAEDTAVYYCAKVS YLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTK</u> <u>GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALT</u> <u>SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS</u> <u>NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT</u> <u>LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP</u> <u>REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI</u> <u>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS</u> <u>DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW</u> <u>QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
Адалимум аб Векторизо ванный IgG - полн остью кодируем ый белок	SEQ ID NO: 24	<b>MYRMQLLLLIALSLALVTNSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLS</b> <b>CAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYA</b> <b>DSVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVS YL</b> <b>TASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL</b> <b>GCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS</b> <b>VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP</b> <b>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP</b> <b>EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ</b> <b>DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS</b> <b>RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP</b>

мкАт	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>VLDS DGSFFL YSKL TVDK SRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYT  <b>QKSLSLSPGKRKR</b>RGSGEGRGSLLTCGDVEENPGP<b>MYRMQL</b>  <b>LLLI</b>ALS LALVTNSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIR  NYLAWYQQKPGKAPKLLIYAAS TLQSGVPSRFSGSGSGTDFT  LTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSV  FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG  NSQESVTEQDSK DSTYSLSSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQ  GLSSPVTKSFNRGEC</p> <p>Лидеры выделены жирным шрифтом; линкер фурин-2А подчеркнут; шарнирная область выделена курсивом</p>
Адалимум аб Векторизи рованный Fab - полн остью кодируем ый белок	SEQ ID NO: 25	<p><b>MYRMQLLLLI</b>ALS LALVTNSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLS  CAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVS AITWNSGHIDYA  DSVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVS YLS  TASSLDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL  GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS  VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDK<b>THRK</b>  <b>RRGS</b>GEGRGSLLTCGDVEENPGP<b>MYRMQLLLLI</b>ALS LALVT  NSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPG  KAPKLLIYAAS TLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVAT  YYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG  TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK  DSTYSLSSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR  GEC</p> <p>Лидеры выделены жирным шрифтом; линкер фурин-2А подчеркнут; шарнирная область выделена курсивом</p>

**Таблица 8. Нуклеотидные последовательности тяжелых и легких цепей, кассет экспрессии и геномов**

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
Адалимум аб	Тяжел ая/ SEQ ID NO: 26	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGC  CCGGCAGGAGCCTGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCGGCTTC  ACCTTCGACGACTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCC  CGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCGCCATCACCTGGAAC  AGCGGCCACATCGACTACGCCGACAGCGTGGAGGGCAGGTT  CACCATCAGCAGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGC  AGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTAC  TGCGCCAAGGTGAGCTACCTGAGCACCGCCAGCAGCCTGGA  CTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCA  GCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTGGCCCCCAGCAGC  AAGAGCACCGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGT  GAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACA  GCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCCGCCGTG  CTGCAGAGCAGCGGCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGAC  CGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA  ACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA  GGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (или  AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCTGCCCGCC+/-  CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGT CCTG</p>
Адалимум аб	Легка я/ SEQ ID NO: 27	<p>GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCA  GCGTGGGCGACAGGGTGACCATCACCTGCAGGGCCAGCCA  GGGCATCAGGAACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCG  GCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCACCCCTG  CAGAGCGGCGTGCCAGCAGGTTACGCGGCAGCGGCAGCG  GCACCGACTTCACCCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAG  GACGTGGCCACCTACTACTGCCAGAGGTACAACAGGGCCCC  CTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGAGG  ACCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGA  CGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGC  TGAACAАCTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAG  GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCG</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		TGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAG CAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCAC AAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAG CCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGGCGAGTGC
Инфликси маб	Тяжел ая/ SEQ ID NO: 28	GAGGTGAAGCTGGAGGAGAGCGGCGGGCCTGGTGCAGC CCGGCGGCAGCATGAAGCTGAGCTGCGTGGCCAGCGGCTTC ATCTTCAGCAACCACTGGATGAACTGGGTGAGGCAGAGCCC CGAGAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCGAGATCAGGAGCAAG AGCATCAACAGCGCCACCCACTACGCCGAGAGCGTGAAGG GCAGGTTACCATCAGCAGGGACGACAGCAAGAGCGCCGT GTACCTGCAGATGACCGACCTGAGGACCGAGGACACCGGC GTGTACTACTGCAGCAGGAACTACTACGGCAGCACCTACGA CTACTGGGGCCAGGGCACCACCCTGACCGTGAGCAGCGCCA GCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTGGCCCCCAGCAGC AAGAGCACCGCGGGCACCAGCGCCCTGGGCTGCCTGGT GAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACA GCGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTG CTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA GGTGGAGCCCAAGAGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (или AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCTGCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCG TGTTCCTG
Инфликси маб	Легка я/ SEQ ID NO: 29	GACATCCTGCTGACCCAGAGCCCCGCCATCCTGAGCGTGAG CCCCGGCGAGAGGGTGAGCTTCAGCTGCAGGGCCAGCCAGT TCGTGGGCAGCAGCATCCACTGGTACCAGCAGAGGACCAAC GGCAGCCCCAGGCTGCTGATCAAGTACGCCAGCGAGAGCAT GAGCGGCATCCCCAGCAGGTTACGCGGCAGCGGCAGCGGC ACCGACTTCACCCTGAGCATCAACACCGTGGAGAGCGAGGA CATCGCCGACTACTACTGCCAGCAGAGCCACAGCTGGCCCT TCACCTTCGGCAGCGGCACCAACCTGGAGGTGAAGAGGACC

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		GTGGCCGCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGA GCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGA ACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTG GACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGA CCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAG CACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAG GTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAGCCC CGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
Голимума б	Тяжел ая/ SEQ ID NO: 30	AGCAAGCTGCAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGGCG TGGTGCAGCCCGGCAGGAGCCTGAGGCTGAGCTGCGCCGCC AGCGGCTTCATCTTCAGCAGCTACGCCATGCACTGGGTGAG GCAGGCCCCCGGCAACGGCCTGGAGTGGGTGGCCTTCATGA GCTACGACGGCAGCAACAAGAAGTACGCCGACAGCGTGAA GGGCAGGTTACCATCAGCAGGGACAACAGCAAGAACACC CTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGCGCCAGGGACAGGGGCATCGCCGCCGGCG GCAACTACTACTACTACGGCATGGACGTGTGGGGCCAGGGC ACCACCGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCCA GCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCCAGCGGC GGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCC CGAGCCCCTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGACCA GCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAG CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGC CCAGC+/- AAGACCCACACC (или AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCTGCCCGCC+/- CCCGAGCTG CTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Голимума б	Легка я/ SEQ ID NO:	GCCGGCAGCGAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCCGCCACCCT GAGCCTGAGCCCCGGCGAGAGGGCCACCCTGAGCTGCAGG GCCAGCCAGAGCGTGTACAGCTACCTGGCCTGGTACCAGCA GAAGCCCAGGCCCCAGGCTGCTGATCTACGACGCCA

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
	31	<p>GCAACAGGGCCACCGGCATCCCCGCCAGGTTTCAGCGGCAGC GGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGGA GCCCAGGACTTCGCCGTGTAATACTGCCAGCAGAGGAGCA ACTGGCCCCCTTCACCTTCGGCCCCGGCACCAAGGTGGAC ATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCC CCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTG GTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGT GCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGC CAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTAC GAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGG GCCTGAGCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGA GTGC</p>
Сатрализу маб	Тяжел ая/ SEQ ID NO: 32	<p>CAGGTGCAGCTGCAGGAGAGCGGCCCCCGCCTGGTGAAGC CCAGCGAGACCCTGAGCCTGACCTGCGCCGTGAGCGGCCAC AGCATCAGCCACGACCACGCCTGGAGCTGGGTGAGGCAGCC CCCCGGCGAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTTCATCAGCTACA GCGGCATCACCAACTACAACCCAGCCTGCAGGGCAGGGTG ACCATCAGCAGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCA GATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAATACT GCGCCAGGAGCCTGGCCAGGACCACCGCCATGGACTACTGG GGCGAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCA AGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGC ACCAGCGGCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGA CTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCG CCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAG AGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCC CAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGG ACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGA GAGGAAGAGCTGCGTGGAG +/- TGCCCCCCTGCCCCGCC +/- CCCCCCGTGGCCGGC</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
Сатрализу маб	Легкая/ SEQ ID NO: 33	<p>GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCA  GCGTGGGCGACAGCGTGACCATCACCTGCCAGGCCAGCACC  GACATCAGCAGCCACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCCGG  CAAGGCCCCCGAGCTGCTGATCTACTACGGCAGCCACCTGC  TGAGCGGCGTGCCAGCAGGTTTCAGCGGCAGCGGCAGCGG  CACCGACTTCACCTTCACCATCAGCAGCCTGGAGGCCGAGG  ACGCCGCCACCTACTACTGCGGCCAGGGCAACAGGCTGCCC  TACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCGAGAGGA  CCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGAC  GAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCT  GAACAACCTTCTACCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG  GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCG  TGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAG  CAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCAC  AAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAG  CCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGGCGAGTGC</p>
Сарилума б	Тяжелая/ SEQ ID NO: 34	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCCTGGTGCAGC  CCGGCAGGAGCCTGAGGCTGAGCTGCGCCGCCAGCAGGTTC  ACCTTCGACGACTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCC  CGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCGGCATCAGCTGGAAC  AGCGGCAGGATCGGCTACGCCGACAGCGTGAAGGGCAGGT  TCACCATCAGCAGGGACAACGCCGAGAACAGCCTGTTCTG  CAGATGAACGGCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCCTGTACTA  CTGCGCCAAGGGCAGGGACAGCTTCGACATCTGGGGCCAGG  GCACCATGGTGACCGTGAGCAGCGCCAGCACCAAGGGCCC  CAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCCAGCG  GCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTC  CCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCCCTGAC  CAGCGGCGTGACACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCG  GCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGC  AGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAA</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>GCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAG AGCTGCGAC+/- AAGACCCACACC (или AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCTGCCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG</p>
Сарилума б	Легка я/ SEQ ID NO: 35	<p>GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCGTGAGCGCCA GCGTGGGCGACAGGGTGACCATCACCTGCAGGGCCAGCCA GGGCATCAGCAGCTGGCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCG GCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCAGCCTG GAGAGCGGCGTGCCCAGCAGGTTTCAGCGGCAGCGGCAGCG GCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAG GACTTCGCCAGCTACTACTGCCAGCAGGCCAACAGCTTCCC CTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGAGGA CCGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGAC GAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCT GAACAACCTTCTACCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAG GTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCG TGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAG CAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCACTACGAGAAGCAC AAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGCAG CCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC</p>
Силтукси маб	Тяжел ая/ SEQ ID NO: 36	<p>gaagtgcagctggtggaagcggcggaactgctgaaaccggcgagcctgaaactgagc tgcgcgagcagcggtttacctttagcagctttgcatgagctggtttcgccagagcccggaaaa cgcttgaatgggtggcggaattagcagcggcgagctatactattatccggataccgtgacc ggccgctttaccattagccgagataacgcgaaaaacacctgtatctggaatgagcagcctgagc agcgaagataccgcatgtattattgagcagcggcgctgtggggctattatgagctgattattggg gccagggcaccagcgtgaccgtgagcagcggcgagcaccaaaggcccagcgtgtttccgctgg cgccgagcagcaaaagcaccagcggcgaccgagcgtgggctgctggtgaaagattattt tccggaaccggtgaccgtgagctggaacagcggcgctgaccagcggcgtgcatactttccg gaggtgctgagagcagcgctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgcccagcagcagcc tgggacccagacctatattgcaacgtgaaccataaacaggagcaaacaccaaaggataaaaaag tgaaccgaaaagctgcat</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		+/- AAGACCCACACC (или AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCTGCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Силтукси маб	Легка я/ SEQ ID NO: 37	cagattgtgctgattcagagcccggcgattatgagcgcgagccccggcgaaaaagtgaccatgac ctgcagcgcgagcagcagcgtgagctatatgtattggtatcagcagaaaccgggagcagccccgc gcctgctgatttatgataccagcaacctggcgagcggcggtgcccgtgctttagcggcagcggc agcggcaccagctatagcctgaccattagccgcatggaagcggaaagatgcccgcacctattattgc cagcagtgaggcggctatccgtataccttggcgggcgccaccaaactggaattaaacgcaccgtg gcccgcgagcgtgttttttccgagcagcgtgaaacagctgaaaagcggcaccgcgagcgt ggtgtgcctgctgaacaactttatccgcgcaagcgaagtgagtgaaagtggataacgcgct gcagagcggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaatagcacctatagcct gagcagcacctgacctgagcaaacggattatgaaaacataaagtgtatgctgcaagtga cccatcaggcctgagcagcccgtgaccaaagcttaaccgcggcgaatgc
Клазакизу маб	Тяжел ая/ SEQ ID NO: 38	gaagtgcagctggtgaaagcggcggcgctggtgagccgggaggcagcctgagcctgag ctgcgaggcagcggccttagcctgagcaactattatgtacctgggtgcccaggcggcggca aaggcctggaatgggtggcattattatggcagcagatgaaaccgcgtatgcaccagcgcgattg gccgctttaccattagccgcgataacagcaaaaacacctgtatctgcagatgaaacagcctgagc cggaagataaccgggtgtattattgcccgcgagatgagcagcattgggatgcgaaattaacct gtggggccaggcaccctggtgaccgtgagcagcgcgagaccaaaggcccagcgtgtttcc gctggcggcagcagcaaaagcaccagcggcggcaccgcggcgtggctgctggtgaaag attatttccggaaccggtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcatacct ttccggcggctgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgcccagcag cagcctgggcaccagacctatattgcaactgaaccataaacgagcaaacaccaaagtggataa acgctggaaccgaaaagtgcgat +/- AAGACCCACACC (или AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCTGCCCGCC+/- CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Клазакизу маб	Легка я/ SEQ ID NO:	gcgattcagatgaccagagcccagcagcctgagcgcgagcgtggcgatcgcgtgaccatta cctgccaggcagccagagcattacaacgaactgagctggtatcagcagaaaccgggcaaaagc gccgaaactgctgattatcgccgagcaccctggcgagcggcgtgccgagcccgttagcggca gcccagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggatgattttgcacctattat

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
	39	<p>tgccagcagggctatagcctgcgcaacattgataacgcgcttggcggcgccaccaaagtggaaatt  aaacgcaccgtggcggcgccgagcgtgtttatctccgagcagatgaacagctgaaaagcgg  caccgcgagcgtggtgtgcctgctgaacaactttatccgcggaagcgaagtgacgtggaaagt  ggataacgcgctgcagagcggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaatag  cacctatagcctgagcagcaccctgaccctgagcaaaagcggattatgaaaaacataaagtgtatgc  gtgcgaagtgaccatcagggcctgagcagcccgggtgacaaaagctttaaccgcgccgaatgc  gaaccgaaaagctgcat</p> <p>+/- AAGACCCACACC (или AAGACCCACCTG) +/-  TGCCCCCCTGCCCGCC+/-  CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG</p>
Сирукума б	Тяжел ая/ SEQ ID NO: 40	<p>Gaagtgcagctggtggaaagcggcgccgctggtgcagccggcgccagcctgcgctgag  ctgcgcgccgagcggctttaccttagcccgttgcgatgagctgggtgcgccaggcgccgggca  aaggcctggaatgggtggcgaataatagcccggcgccagctggacctattatagcgateaccgtg  accggccgctttaccattagccgcgataacgcgaaaaacagcctgtatctgcagatgaacagcctg  cgcgcggaagataccgcggtgtattattgcgcgcccagctgtggggctattatgcgctggatatt  ggggccagggcaccaccgtgaccgtgagcagcgcgagcaccaaaggcccagcgtgtttccgc  tggcggcagcagcaaaagcaccagcggcgccaccgcgccgctgggctgcctggtgaaagatt  atctccggaaccggtgaccgtgagctggaacagcggcgctgaccagcggcgtgcataccttcc  cggcgggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgccgagcagcag  cctgggcaaccagacctatattgcaacgtgaaccataaaccgagcaacaccaaagtggataaaaa  agtgaaccgaaaagctgcat</p> <p>+/- AAGACCCACACC (или AAGACCCACCTG) +/-  TGCCCCCCTGCCCGCC+/-  CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG</p>
Сирукума б	Легка я/ SEQ ID NO: 41	<p>gaaattgtgctgaccagagcccggcgaccctgagcctgagcccggcggaacgcgagaccctg  agctgcagcgcgagcattagcgtgagctatatgtattggtatcagcagaacccgggcccaggcgcc  gcgctgctgatttatgatatgagcaacctggcgagcggcattccggcgcgctttagcggcagcgg  cagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctggaaccggaagattttgcggtgtatttgca  tgagtgaggcggctatccgtataccttggcggcgccaccaaagtggaaattaaacgcaccgtgg  cggcgccgagcgtgtttatctccgagcagatgaacagctgaaaagcggcaccgagcgtg  gtgtgcctgctgaacaactttatccgcggaagcgaagtgacgtggaaagtggataacgcgctg</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		cagagcggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaagatagcacctatagcctg agcagcacctgaccctgagcaaaagcggattatgaaaaacataaagtgtatgctgcaagtgac ccatcagggcctgagcagcccggtagcaaaaagctttaaccgcggaatgc
Олокизум аб	Тяжел ая/ SEQ ID NO:42	Gaaagtgcagctggtgaaagcggcggcctggtgcagccggcgagcctgcgctgag ctgcgcgagcagcggcttaactttaacgattattttatgaactgggtgcgccaggcgcgggcaaa ggcctggaatgggtggcgcagatgcgaacaaaaactatcagtatggcacctattatgcggaag cctggaaggccgctttaccattagccgcatgatagcaaaaacagcctgtatctgcagatgaacag cctgaaaaccgaagataaccggtgtattattgcgcgcgaaagctattatggctttaccagctatt ggggccaggcaccctggtgaccctgagcagcgcgagcaccaaaaggccgagcgtgtttccgc tggcgccgtgcagccgagcaccagcgaagcaccgcgcgctgggctgctggtgaaagatta ttttccggaaccggtgaccctgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgatacctttcc ggcggctgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccctgcccagcagcagc ctgggcacaaaacctatacctgcaacgtggatcataaacgagcaacaccaaagtggataaacg cgtgGAGAGCAAGTAC +/- GGCCCCCCTGCCCCCCTG CCCCGCC (GGCCCCCCTGCCCCAGCTGCCCCGCC)+/- CCCGAGTTCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Олокизум аб	Легка я/ SEQ ID NO: 43	gatattcagatgaccagagcccagcagcctgagcgcgagcgtggcgatcgctgaccattac ctgccaggcagccaggatattggcattagcctgagctggtatcagcagaaccgggcaaaagcgc cgaactgctgattataacgcgaacaacctggcggatggcgtgccgagccgctttagcggcagc ggcagcggcaccgattttaccctgaccattagcagcctgcagccggaagattttgcacctattatg cctgcagcataacagcgcgctgatacctttggccaggcaccaaaactgaaattaaacgcaccgt ggcggcggcagcgtgtttttccgagcgtgaaacagctgaaaagcggcaccgagcgcg tgggtgctgctgaacaactttatccgcggaagcgaagtgagtgaaagtggataacgcgc tgcagagcggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaagatagcacctatagcct gagcagcaccctgaccctgagcaaaagcggattatgaaaaacataaagtgtatgctgcaagtga ccatcagggcctgagcagcccggtagcaaaaagctttaaccgcggaatgc
Герилимзу маб	Тяжел ая/ SEQ ID NO:	Gaaagtgcagctgcaggaaagcggcccggcctggtgaaaccgagccagaccctgagcctgac ctgcaccgtgagcggcggcagcattaccagccgctattatgctggagctggattgccagccgc cgggcaaaaggcctggaatggattggcgtgattgattatgatggcgatacctattatagcccagcct gaaaagcccgtgagcattagctgggataaccagcaaaaaccagtttagcctgaaactgagcagcg tgaccccggcgataaccggtgtattattgcgcgcgatccggatgtggtgaccgctttcatta

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
	44	<p>tgattattggggccagggcacatggtgaccgtgagcagcgcgagcaccaaggcccagcgtg  ttccgctggcgccgagcagcaaaagcaccagcggcggcaccgcgcgctgggctgcctggtg  aaagattattttccggaaccggtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgca  tacctttccggcggtgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgccga  gcagcagcctgggcacccagacctatatttgaacgtgaaccataaacgagcaaaccaaaagtg  gataaaaaagtggaaccgaaaagctgcat +/- AAGACCCACACC (или  AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCTGCCCGCC+/-  CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG</p>
Герилимзу маб	Легка я/ SEQ ID NO: 45	<p>cagagcgcgctgaccagccgagcgtgagcggcaccggccagagcgtgaccattagc  tgcgcgggcggaacaacgatattggcacctatgctatgtgagctggtatcagcagctgccggg  caccgcccgaactgatattataaagtgaccaccgcgcgagcggcattccggatcgctttag  cggcagcaaaagcggcaacaccgagcctgaccattagcggcctgcaggcgggaagatgaagc  ggattattattgcgcgagctatcgcaacttaacaacgcggtgtttggcaccggcaccaaactgacc  gtgctgggcccagccgaaagcggcggcagcgtgaccctgtttccgcccagcagcgaagaactgc  aggcgaacaagcggcctggtgtgcctgattagcattttatccgggcccggtgaccgtggcgt  ggaaagcggatagcagcccgggaaagcggcgtggaaaccaccacccgagcaaacagagc  aacaacaatatgcgcgagcagctatctgagcctgaccgggaacagtggaaaagccatcgca  gctatagctgccaggtgacctatgaaggcagcaccgtggaaaaaccgtggcggcggaccgaatg  cagc</p>
Тоцилизу маб	Тяжел ая/ SEQ ID NO:18 3	<p>Caggtgcagctgcaggaaagcggcccggcctggtgcccagccagaccctgagcctgac  ctgcaccgtgagcggctatagcattaccagcgtatgctgaggctgggtgcccagccgcccgg  gccgcccctggaatggattgctatattagctatagcggcattaccacctataaccgagcctgaa  aagccgctgaccatgctgcgataaccagcaaaaaccagtttagcctgagcagcgtgca  ccgcccggataaccggtgtattattgcgcgagcctggcggcaccaccgctggtgattatt  ggggccaggcagcctggtgaccgtgagcagcgcgagcaccaaggcccagcgtgtttccgc  tggcggcagcagcaaaagcaccagcggcggcaccgcccggcctgggctgctggtgaaagatt  atthccggaaccggtgaccgtgagctggaacagcggcgcgctgaccagcggcgtgcatactttc  cggcggctgctgcagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgccgagcagcag  cctggcaccagacctatatttgaacgtgaaccataaacgagcaaaccaaaagtggataaaaa  agtgaaccgaaaagctgcat +/- AAGACCCACACC (или  AAGACCCACCTG) +/- TGCCCCCCTGCCCGCC+/-</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		CCCGAGCTGCTGGGCGGCCCCAGCGTGTTCCTG
Тоцилизу маб	Легка я/ SEQ ID NO:18 4	gatattcagatgaccagagcccagcagcctgagcgcgagcgtgggcgatcgcgtgaccattac ctgccgcgcgagccaggatattagcagctatctgaactggtatcagcagaaaccgggcaaagcgc cgaactgctgattattataaccagccgctgcatagcggcgtgccgagccgcttagcggcagcg gcagcggcaccgattttacccttaccattagcagcctgcagccggaagatattgcgacctattattgc cagcagggcaacaccctgccgtataccttggccagggcaccaaagtggaaattaaacgcaccgt ggcggcgccgagcgtgttttttccgccgagcgtgaacagctgaaaagcggcaccgcgagcgc tggtgtcctgctgaacaactttatccgcgcaagcgaagtgcagtgaaagtggataacgcgc tcagagcggcaacagccaggaaagcgtgaccgaacaggatagcaaagatagcacctatagcct gagcagcaccctgacctgagcaaacgggattatgaaaaacataaagtgtatgcgtgcaagtga cccatcagggcctgagcagcccgggtgaccaaagctttaaccgcgcgcaatgc
pAAV.CA G. Adalimum ab. IgG  (om 5'-ITR к 3'-ITR)	SEQ ID NO: 46	ctgcgcgctcgtcgcctactgaggcccccgggcaaagcccgggcgctcgggacctttggtc gccccgctcagtgagcgcgagcgcgcgagagaggagtgcccaactccatcactaggggtt cctttagttaatgattaaccgcatgctacttatctaccagggtaatggggatcctctagaactatag ctagtcgacattgattattgactagtattaatagtaatcaattacggggtcattagttcatagccatata tggagttccgcttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgccaacgacccccgcc cattgacgtcaataatgacgtatgtcccatagtaacgccaatagggactttcattgacgtcaatggg tggagtatttacggtaaacctgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgcccct attgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgccagtcacatgacctatgggactttcct acttggcagtacatctacgtattagtcacgctattaccatggtcgaggtgagccccacgttctgcttc acttccccatctccccctcccccccccaattttgtatttttttttaattttttgtgcagcgt ggggggggggggggggggggggggcgcgccaggcggggcggggcggggcggggggcgg ggcggggcggagggcggagaggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtctc tttatggcgagggcggcggcggcggcggcctataaaaagcgaagcgcgcggcggggcgggagt cgctgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgcccgcgctcgcgcccggccccggctct gactgaccgcgttactcccacagtgagcggggcgggacggcccttctcctccgggctgtaattagc gcttggttaatgacggcttgtttctttctgtggctgcgtgaaagccttgaggggctccgggagggcc ctttgtcgggggggagcggctcgggggggtgcgtgcgtgtgtgtgcgtggggagcgcgcgctg cggctccgcgctgcccggcggtgtgagcgcgtgcggcgcggcggggctttgtgcgctccgc agtgtgcgcgaggggagcgcggccggggggcggtgccccgggtgccccgggggggctgcgagg ggaacaaaggctgcgtgccccgtgtgtgcgtgggggggtgagcaggggggtgggcgcgctcgg

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>tcgggctgcaacccccctgcacccccctccccgagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcg  gggctccgtacggggcggtggcgcggggctgccgtgccgggcggggggtggcggcaggtgg  gggtgccgggcgggggcggggcccgcctcgggcccggggagggtctcgggggaggggcgcgggcg  gccccggagcgccggcggtgtcgaggcgggcgagccgcagccattgcctttatggtaatcg  tgcgagagggcgagggacttcctttgtcccaaatctgtgaggagccgaaatctgggagggcgccg  ccgcaccccccttagcgggcgcgggggcgaagcgggtgccggcgccggcaggaaggaaatgggc  ggggagggccttcgtgctgcccgcgccgctcccccttctccctctccagcctcggggctgtccg  cggggggacggctgccttcgggggggacggggcagggcggggttcggcttctggcgtgtgacc  ggcggctctagacctctgctaaccatgttcatgccttctcttttctactacagctcctgggcaactgc  tggttattgtgctgtctcatcattttggcaaagAATTCGCCACCATGTACAGAAT  GCAGCTGCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTAC  CAATTCTGAAGTGCAGCTGGTGGAAAGTGGTGGTGGACTGG  TGCAGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCTGCCTCT  GGCTTACCTTTGATGACTATGCCATGCACTGGGTCAGACA  GGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATCACCT  GGAActCTGGCCACATTGACTATGCTGACTCTGTGGAAGGC  AGATTCACCATCAGCAGAGACAATGCCAAGAACAGCCTGTA  CCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGT  ACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACAGCCAGCAGC  CTGGATTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTC  TGCCAGCACAAAGGGCCCCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCCAG  CAGCAAGAGCACCAAGTGGTGGAAACAGCTGCCCTGGGCTGTC  TGGTCAAGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGG  ACTCAGGGGCTCTGACCTCTGGGGTGCACACATTTCCAGCT  GTGCTGCAGTCTCTGGCCTGTACTCTCTGTCCTCTGTGGTC  ACAGTGCCTAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTG  CAATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAG  AAGGTGGAACCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGTCC  TCCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTTGGAGGCCCTTCTGTGTT  CCTGTTTCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCA  GAACCCCTGAAGTGACCTGTGTGGTGGTTGATGTGTCCCAT</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>GAGGACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTATGTGGATGGGGT  TGAAGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAG  TACAACAGCACCTACAGAGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCT  GCATCAGGACTGGCTGAATGGCAAAGAGTACAAGTGCAAA  GTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATTGAGAAAACCAT  CTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAAGAGAACCCAGGTTTACA  CACTGCCACCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTG  TCCCTGACCTGCCTGGTTAAGGGCTTCTACCCCTCTGACATT  GCTGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAAC  ACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCATTCT  TCCTGTACAGCAAGCTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAG  CAGGGGAATGTGTTTCAGCTGCTCTGTGATGCATGAGGCCCT  GCACAACCACTACACCCAGAAAAGTCTGAGTCTGAGCCCTG  GCAAGAGAAAAGAGAAGAGGGCTCTGGAGAAGGCAGAGGCTC  CCTGCTGACATGTGGGGATGTTGAAGAGAATCCTGGGCCTA  TGTATAGGATGCAACTGCTCCTCCTGATTGCTCTGAGCCTGG  CTCTTGTGACCAACTCTGACATCCAGATGACACAGAGCCCT  AGCAGCCTGTCTGCTTCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCAC  ATGCAGAGCCAGCCAGGGAATCAGAAACTACCTGGCCTGGT  ATCAGCAAAAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTAT  GCAGCCAGCACACTGCAGTCAGGGGTGCCAAGCAGATTTTC  AGGCTCTGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGACCATTTCTAG  CCTGCAGCCTGAGGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGAGAT  ACAACAGAGCCCCATACACCTTTGGACAGGGCACAAAGGTG  GAAATCAAGAGAACAGTGGCTGCCCCATCTGTGTTTCATCTT  CCCACCATCTGATGAACAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTG  TTGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCTAGAGAAGCCAAG  GTGCAGTGAAGGTTGACAATGCCCTGCAGTCTGGCAATAG  CCAAGAATCTGTGACAGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACCT  ACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACACTGAGCAAGGCTGACTAT  GAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGACACACCAGG</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>GACTGAGCAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGAGA  GTGCTGATAACtcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatctttccctctgcc  aaaaattatggggacatcatgaagcccctgagcatctgacttctggctaataaaggaaattatttca  ttgcaatagtgttggaaattttgtgtctctcactcggaagcaattcggtgatctgaattcgaccacc  ataataaccattaccctgtagataagtagcatggcgggtaatcattaactacaaggaaccctagt  gatggagttggccactccctctctgcgcgctcgcctcactgaggccgggaccaaaggctc  cccgacgcccgggctttgcccgggcgccctcagtgagcgcgagcgcgcgag</p>
<p>pAAV.CA G. Adalimum ab. IgG (от промотоp а к поли(A))</p>	<p>SEQ ID NO: 47</p>	<p>gacattgattattgactagttattaatagtaatcaattacggggtcattagttcatagcccatataggag  ttccgcgttacataactacggtaaattggcccgcctggctgaccgccaacgacccccgccattga  cgtcaataatgacgtatgtcccatagtaacgccaatagggacttccattgacgtcaatgggtggag  tattacggtaaaactgccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacccccctattgac  gtcaatgacggtaaattggcccgcctggcattatgccagttacatgaccttatgggacttctacttg  gcagtacatctacgtattagtcacgctattaccatggtcgaggtgagccccacgttctgcttactctc  cccatctccccccctccccaccccccaattttgtattattatttttaatttttgtgcagcgcgatggggg  cggggggggggggggggggcgcgccaggcggggcgggggcgagggggcgggggcggg  ggcgaggcggagaggtgcgggcgagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtctctttatg  gagggcggcgggcgggcgccctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgggagtcgctg  cgcgctgccttcgccccgtgccccgtccgcccgcctcgcgcccccgggctctgactg  accgcttactcccacaggtgagcggggcgggacggccctctctcgggctgtaattagcgttg  gttfaatgacggctgtttctttctgtggctgctgaaagcctgaggggctccgggagggccctttg  tgcggggggagcggctcggggggtgctgctgctgtgtgtgctggggagcgcgcgtgaggc  tccgcgctgcccggcggtgtgagcgtgcccgcggggcggggctttgtgcctccgagtg  tgcgcgaggggagcgcggccggggcggtgccccgcggtgccccgggggctgaggggga  acaaaggctgctgccccgtgtgctggtggggggtgagcagggggtgtgggcgctcggctc  ggctgcaacccccctgcacccccctcccagttgctgagcacggccccggcttcgggtcggg  gctccgtacggggcgtggcgggggctcggctgcccggcggggggtggcggcaggtgggg  gtgccggggcgggggcgggccctcgggcccggggagggctcgggggagggggcgggcggc  ccccggagcgcggcggtgtcagggcgggcagccgagccattgcctttatgtaacgtg  cgagagggcgagggacttctttgtcccaatctgtcggagccgaaatctgggagggcggcc  gcaccccccttagcggggcgggggcgaagcgggtgcccggcgagggaaggaaatgggcgg  ggagggccttctgctgcgcgcccgcctccctctccagcctcggggctgtccg</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p> gggggacggctgccttcgggggggacggggcagggcggggttcggcttctggcgtgtgaccgg  cggctctagagcctctgctaaccatgttcacgcttcttttctacagctcctgggcaacgtgctg  gttattgtgctgtctcatcatttggcaaagAATTCGCCACCATGTACAGAATGC  AGCTGCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCA  ATTCTGAAGTGCAGCTGGTGGAAAGTGGTGGTGGACTGGTG  CAGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCTGCCTCTGG  CTTCACCTTTGATGACTATGCCATGCACTGGGTCAGACAGG  CCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATCACCTGG  AACTCTGGCCACATTGACTATGCTGACTCTGTGGAAGGCAG  ATTCACCATCAGCAGAGACAATGCCAAGAACAGCCTGTACC  TGCAGATGAACTCCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGTAC  TACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACAGCCAGCAGCCT  GGATTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTCTG  CCAGCACAAAGGGCCCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCCAGCA  GCAAGAGCACCAGTGGTGGAACAGCTGCCCTGGGCTGTCTG  GTCAAGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGAA  CTCAGGGGCTCTGACCTCTGGGGTGCACACATTTCCAGCTGT  GCTGCAGTCCTCTGGCCTGTACTCTCTGTCTCTGTGGTCAC  AGTGCCTAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA  ATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA  GGTGGAAACCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGTCCTC  CATGTCCTGCTCCAGAACTGCTTGGAGGCCCTTCTGTGTTCC  TGTTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGA  ACCCCTGAAGTGACCTGTGTGGTGGTTGATGTGTCCCATGA  GGACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTATGTGGATGGGGTTG  AAGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTA  CAACAGCACCTACAGAGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGC  ATCAGGACTGGCTGAATGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGT  GTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATTGAGAAAACCATCT  CCAAGGCCAAGGGCCAGCCAAGAGAACCCAGGTTTACAC  ACTGCCACCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGT </p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>CCCTGACCTGCCTGGTTAAGGGCTTCTACCCCTCTGACATTG  CTGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAАСТА  САAGACAАССССТССТGTGCTGGACTCTGATGGCTCATTCTT  CCTGTACAGCAAGCTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAGC  AGGGGAATGTGTTСAGCTGCTCTGTGATGCATGAGGCCCTG  CACAАССАСТACАСССAGAAAAGTCTGAGTCTGAGCCCTGG  CAAGAGAAAGAGAAGAGGCTCTGGAGAAGGCAGAGGCTCC  CTGCTGACATGTGGGGATGTTGAAGAGAATCCTGGGCCTAT  GTATAGGATGCAACTGCTCCTCCTGATTGCTCTGAGCCTGGC  TCTTGTGACCAACTCTGACATCCAGATGACACAGAGCCCTA  GCAGCCTGTCTGCTTCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACA  TGCAGAGCCAGCCAGGGAATCAGAAACTACCTGGCCTGGTA  TCAGCAAAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATG  CAGCCAGCACACTGCAGTCAGGGGTGCCAAGCAGATTTTCA  GGCTCTGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGACCATTTCTAGC  CTGCAGCCTGAGGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGAGATA  CAACAGAGCCCCATACACCTTTGGACAGGGCACAAAGGTGG  AAATCAAGAGAACAGTGGCTGCCCATCTGTGTTСATCTTC  CCACCATCTGATGAACAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTT  GTGTGCCTGCTGAACAАСТTCTACCCTAGAGAAGCCAAGGT  GCAGTGGAAGGTTGACAATGCCCTGCAGTCTGGCAATAGCC  AGAATCTGTGACAGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACCTAC  AGCCTGAGCAGCACCCCTGACACTGAGCAAGGCTGACTATGA  GAAGCACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGACACACCAGGGA  CTGAGCAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT  GCTGATAAАCtcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatcttttcctctgccaaa  aattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaataaaggaaattttttcattg  caatagtgtgttggaatttttgtgtctctcactcg</p>
Трансген одноцепоч ечной	SEQ ID NO:	<p>ATGTACAGAATGCAGCTGCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTG  GCCCTGGTCACCAATTCTGAAGTGCAGCTGGTGGAAAGTGG  TGGTGGACTGGTGCAGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTT</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
конструкц ии полноразм ерного мкАт адалимума ба (НС- Линкер фурин- Т2А-LC)	48	<p>GTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTTGATGACTATGCCATGCACT  GGGTCAGACAGGCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGGTGTC  AGCCATCACCTGGAACCTCTGGCCACATTGACTATGCTGACT  CTGTGGAAGGCAGATTCACCATCAGCAGAGACAATGCCAAG  AACAGCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCTGAGGA  CACAGCAGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCA  CAGCCAGCAGCCTGGATTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTT  ACAGTGTCTCTGCCAGCACAAAGGGCCCCTCTGTTTTTCCA  CTGGCTCCCAGCAGCAAGAGCACCAGTGGTGGAACAGCTGC  CCTGGGCTGTCTGGTCAAGGATTA CTCCCTGAGCCTGTGAC  AGTGTCTTGGAACTCAGGGGCTCTGACCTCTGGGGTGCACA  CATTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCTCTGGCCTGTA CTCTGT  CCTCTGTGGTCACAGTGCCTAGCTCTAGCCTGGGCACCCAG  ACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAA  GGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGTGACAAGACC  CACACCTGTCCTCCATGTCCTGCTCCAGAACTGCTTGGAGGC  CCTTCTGTGTTCTGTTTCCTCCAAGCCTAAGGACACCCTG  ATGATCAGCAGAACCCTGAAGTGACCTGTGTGGTGGTTGA  TGTGTCCCATGAGGACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTATG  TGGATGGGGTTGAAGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCTAGA  GAGGAACAGTACAACAGCACCTACAGAGTGGTGTCTGTGCT  GACAGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAATGGCAAAGAGTACA  AGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATTGAG  AAAACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAAGAGAACCCC  AGGTTTACACACTGCCACCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAG  AACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTTAAGGGCTTCTACCCC  TCTGACATTGCTGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGA  GAACA ACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCTGATG  GCTCATTCTTCTGTACAGCAAGCTGACTGTGGACAAGTCC  AGATGGCAGCAGGGGAATGTGTT CAGCTGCTCTGTGATGCA  TGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAAAGTCTGAGTC</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>TGAGCCCTGGCAAGAGAAAGAGAAGAGGCTCTGGAGAAGG  CAGAGGCTCCCTGCTGACATGTGGGGATGTTGAAGAGAATC  CTGGGCCTATGTATAGGATGCAACTGCTCCTCCTGATTGCTC  TGAGCCTGGCTCTTGTGACCAACTCTGACATCCAGATGACA  CAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCTTCTGTGGGAGACAGAGT  GACCATCACATGCAGAGCCAGCCAGGGAATCAGAACTAC  CTGGCCTGGTATCAGCAAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCT  GCTGATCTATGCAGCCAGCACACTGCAGTCAGGGGTGCCAA  GCAGATTTTCAGGCTCTGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGA  CCATTTCTAGCCTGCAGCCTGAGGATGTGGCCACCTACTACT  GCCAGAGATAACAACAGAGCCCCATACACCTTTGGACAGGGC  ACAAAGGTGGAAATCAAGAGAACAGTGGCTGCCCCATCTGT  GTTTCATCTTCCCACCATCTGATGAACAGCTGAAGTCTGGCAC  TGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCTAGAGA  AGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTTGACAATGCCCTGCAGTCTG  GCAATAGCCAAGAATCTGTGACAGAGCAGGACTCCAAGGA  TTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGCACTGAGCAAGG  CTGACTATGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGACA  CACCAGGGACTGAGCAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACA  GGGGAGAGTGCTGA</p>
<p>Кассера pAAV.CA G. Adalimum ab. Fab (om 5'-ITR к 3'-ITR)</p>	<p>SEQ ID NO: 49</p>	<p>ctgcgcgctcgcctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggctcgggacctttggtc  gcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgagagaggagtgccaactccatcactaggggtt  ccttgtagttaatgattaaccgcatgctacttatctaccagggtaatggggatcctctagaactatag  ctagtcgacattgattattgactagttattaatagtaataatcaattacggggtcattagttcatagccatata  tggagttccgctfacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgccaacgacccccgcc  cattgacgtcaataatgacgtatgtccatagtaacgccaatagggactttcattgacgtcaatggg  tggagtatttacggtaaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtagccccct  attgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgccagtacatgacctatgggacttctct  acttggcagtacatctacgtattagtcacgtattaccatggtcgaggtgagccccacgttctgcttc  actctccccatctcccccccccccccccccaattttgtattatttttttaattttttgtgcagcgat  ggggggcggggggggggggggggggcgcgcgccaggcggggcggggcgggggcgagggggcgg</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>ggcggggcgaggcggagaggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtctct  tttatggcgaggcggcggcggcggcggccctataaaaagcgaagcgcgcggcgggaggag  cgctgcgcgctgccttcgccccgtgccccgctccgccgcgcctcgcgcgccccggctct  gactgaccgcgttactcccacaggtgagcggggcgggacggccctctcctcgggctgtaattagc  gcttggttaatgacggcttgtttctttctgtggctgcgtgaaagccttgaggggctccgggaggcc  ctttgtcgggggggagcggctcgggggggtgcgtgcgtgtgtgtgcgtggggagcgcgcgtg  cggctccgcgctgccccggcggctgtgagcgtgcgggcgcccggcggggctttgtgcgctccgc  agtgtgcgcgaggggagcgcggccggggggcggtgccccgcggtgcggggggggctgcgagg  ggaacaaggctgcgtgcgggggtgtgtgcgtgggggggtgagcaggggggtggggcgcgtcgg  tcgggctgcaacccccctgcacccccctcccagttgctgagcacggcccggcttcgggtgcg  gggctccgtacggggcgtggcgcggggctcgcctgcccggcgggggggtggcggcaggtgg  gggtgccgggcggggcggggcccgcctcggggccggggagggtcgggggaggggcgcggcg  gccccggagcgcggcggctgtcgaggcgcggcgagccgcagccattgcctttatggtatcg  tgcgagagggcgcagggacttctttgtcccaaatctgtgcggagccgaaatctgggagggcggc  ccgcacccccctagcgggcgcggggcgaagcgggtgcggcggcaggaaggaaatgggc  ggggagggccttcgtgcgtgccgcggcggcgtccccctctccctctccagcctcgggctgtccg  cgggggggacggctgccttcgggggggacggggcagggcgggggttcggcttctggcgtgtgacc  ggcggctctagacctctgtaacctgttcatccttctcttttctacagctcctgggcaactgctc  tggtattgtgctgtctcatcatttggcaaagAATTCGCCACCATGTACAGAAT  GCAGCTGCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCAC  CAATTCTGAAGTGCAGCTGGTGGAAAGTGGTGGTGGACTGG  TGCAGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCTGCCTCT  GGCTTCACCTTTGATGACTATGCCATGCACTGGGTCAGACA  GGCCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATCACCT  GGAActCTGGCCACATTGACTATGCTGACTCTGTGGAAGGC  AGATTCACCATCAGCAGAGACAATGCCAAGAACAGCCTGTA  CCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGT  ACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACAGCCAGCAGC  CTGGATTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTC  TGCCAGCACAAAGGGCCCCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCCAG  CAGCAAGAGCACCAAGTGGTGGAAACAGCTGCCCTGGGCTGTC</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>TGGTCAAGGATTA CTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGA  ACTCAGGGGCTCTGACCTCTGGGGTGCACACATTTCCAGCT  GTGCTGCAGTCCTCTGGCCTGTA CTTCTCTGTCCTCTGTGGTC  ACAGTGCCTAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTG  CAATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAG  AAGGTGGAACCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACAGAAAGA  GAAGAGGCTCTGGAGAAGGCAGAGGCTCCCTGCTGACATGT  GGGGATGTTGAAGAGAATCCTGGGCCTATGTATAGGATGCA  ACTGCTCCTCCTGATTGCTCTGAGCCTGGCTCTTGTGACCAA  CTCTGACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTG  CTTCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACATGCAGAGCCAGC  CAGGGCATCAGAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC  AGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATGCAGCCAGCACAC  TGCAGAGTGGGGTGCCAAGCAGATTTTCAGGCTCTGGCTCT  GGCACAGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCTGCAGCCTGA  GGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGAGATAACAACAGAGCCC  CATAACCTTTGGACAGGGCACAAAGGTGGAAATCAAGAG  AACAgttgcagaccctcagtttcatcttccccccctcagatgaacagCTGAAGTCTG  GCACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAACA ACTTCTACCCCA  GAGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTTGACAATGCCCTGCA  GTCAGGCAACAGCCAAGAATCTGTGACTGAACAGGATTCCA  AGGATAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACACTGAGC  AAGGCTGACTATGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGTGAAGT  GACCCACCAGGGACTGAGCAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCA  ACAGGGGAGAGTGCTGATAACtcgaggacggggtgaactacgcctgaggatc  cgatcttttccctctgcaaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgactctggctaa  taaaggaaattattttcattgcaatagtgtgttgaatttttgtgtctctcactcggaagcaattcgttga  tctgaattcgaccaccataataccattaccctggtagataagtagcatggcgggttaatacattaac  tacaaggaaccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcgtcgtcactgaggcc  gggcgaccaaaggtcgcccgcgcccgggctttgccggggcgccctcagtgagcgagcgagc  gcgcag</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
Кассета pAAV.СА G. Adalimum ab. Fab (от промотор а к поли(А))	SEQ ID NO: 50	gacattgattattgactagttattaatagtaatcaattacgggggtcattagttcatagcccatatattggag ttccgcgttacataacttacggtaaattggcccgcctggctgaccgccaacgacccccgccattga cgtcaataatgacgtatgtcccatagtaacgccaatagggacttccattgacgtcaatgggtggag tatttacggtaaactgccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgac gtcaatgacggtaaattggcccgcctggcattatgccagtacatgacctatgggacttctacttg gcagtacatctacgtattagtcatcgtattaccatggctgaggtgagccccacgttctgcttactctc cccatctccccccctccccaccccccaattttgtattatttttaatttttgtgcagcgatggggg cggggggggggggggggggcgcgcgccaggcggggcgggggcgaggggcgggggcgg ggcgaggcggagaggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtctctttatg gcgaggcggcgggcgggcgccctataaaaagcgaagcgcgcgggcgggcgaggctgctg cgcgctgccttcgccccgtccccgcctccgcccgcctcgcgcccggccccggctgactg accgcgttactcccacaggtgagcggcgggacggccctctctccgggctgtaattagcgttg gtttaatgacggctgtttctttctgtggctgctgaaagccttgaggggctccgggagggcccttg tgcggggggagcggctcggggggtgctgctgctgtgtgtgctggtggggagcggcgctgccc tccgcgctgcccggcggtgtgagcgtgcgggcgggcggggctttgtgcgctccgcagtg tgcgagggggagcggcgccggggggcggtgccccgcggtgccccggggggctgaggggga acaaaggctgctgccccgggtgtgctgctgggggggtgagcagggggtgtgggcgctcggtcg ggctgcaacccccctgcacccccctccccaggtgctgagcacggccccggcttcgggtgcccc gctccgtacggggcgtggcgggggctcgcctgcccggcggggggtggcgggcaggtgggg gtgccccggggggggggggcgccctccccggggggagggtcgggggagggggcgggcgggc ccccggagcggcgggcgtgctgagggcgggcgagccgagccattgcctttatgtaacgtg cgagagggcgagggacttctttgtcccaatctgtcggagccgaaatctgggagggcggcc gcaccccccttagcggggcgggggcgaagcgggtgcccggcgccggcaggaaggaaatggcggg ggagggccttctgctgctgcccgcggcctccctctcctctccagcctcggggctgcccgcg gggggacggctgccttcggggggggacggggcagggcggggttcggcttctggcgtgtgaccgg cggctctagacctctgtaaccatgttcatgcttctcttttctctacagctcctgggcaactgctg gttattgtgctgtctcatctttggcaaaagAATTCGCCACCATGTACAGAATGC AGCTGCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCA ATTCTGAAGTGCAGCTGGTGGAAAGTGGTGGTGGACTGGTG CAGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCTGCCTCTGG CTTCACCTTTGATGACTATGCCATGCACTGGGTCAGACAGG

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>CCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATCACCTGG  AACTCTGGCCACATTGACTATGCTGACTCTGTGGAAGGCAG  ATTCACCATCAGCAGAGACAATGCCAAGAACAGCCTGTACC  TGCAGATGAACTCCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGTAC  TACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACAGCCAGCAGCCT  GGATTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTCTG  CCAGCACAAAGGGCCCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCCAGCA  GCAAGAGCACCAGTGGTGGAACAGCTGCCCTGGGCTGTCTG  GTCAAGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGAA  CTCAGGGGCTCTGACCTCTGGGGTGCACACATTTCCAGCTGT  GCTGCAGTCCTCTGGCCTGTACTCTCTGTCTCTGTGGTCAC  AGTGCCTAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA  ATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA  GGTGGAAACCAAGAGCTGTGACAAGACCCACAGAAAGAGA  AGAGGCTCTGGAGAAGGCAGAGGCTCCCTGCTGACATGTGG  GGATGTTGAAGAGAATCCTGGGCCTATGTATAGGATGCAAC  TGCTCCTCCTGATTGCTCTGAGCCTGGCTCTTGTGACCAACT  CTGACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCT  TCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACATGCAGAGCCAGCCA  GGGCATCAGAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAG  GCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATGCAGCCAGCACACTG  CAGAGTGGGGTGCCAAGCAGATTTTCAGGCTCTGGCTCTGG  CACAGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCTGCAGCCTGAGG  ATGTGGCCACCTACTACTGCCAGAGATACAACAGAGCCCCA  TACACCTTTGGACAGGGCACAAAGGTGGAAATCAAGAGAA  CAgttgcagcacctcagtttcatcttccccctcagatgaacagCTGAAGTCTGGC  ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCAGA  GAAGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTTGACAATGCCCTGCAGTC  AGGCAACAGCCAAGAATCTGTGACTGAACAGGATTCCAAG  GATAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACACTGAGCAA  GGCTGACTATGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGA</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		CCCACCAGGGACTGAGCAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAAC AGGGGAGAGTGCTGATAACtcgaggacgggggtaactacgcctgaggatccga tcttttccctctgccaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctggctaataa aggaaattttttcattgcaatagtgtgtggaattttttgtgtctctcactcg
Трансген одноцепоч ечной конструкц ии Fab адалимума ба (НС- Линкер фурин- Т2А-LC)	SEQ ID NO: 51	ATGTACAGAATGCAGCTGCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTG GCCCTGGTCACCAATTCTGAAGTGCAGCTGGTGGAAAGTGG TGGTGGACTGGTGCAGCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTT GTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTTGATGACTATGCCATGCACT GGGTCAGACAGGCCCTGGCAAAGGACTGGAATGGGTGTC AGCCATCACCTGGAACCTCTGGCCACATTGACTATGCTGACT CTGTGGAAGGCAGATTCACCATCAGCAGAGACAATGCCAAG AACAGCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCTGAGGA CACAGCAGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCA CAGCCAGCAGCCTGGATTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTT ACAGTGTCTCTGCCAGCACAAAGGGCCCCTCTGTTTTTCCA CTGGCTCCCAGCAGCAAGAGCACCAGTGGTGGAACAGCTGC CCTGGGCTGTCTGGTCAAGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGAC AGTGTCTTGGAACTCAGGGGCTCTGACCTCTGGGGTGCACA CATTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCTCTGGCCTGTACTCTCTGT CCTCTGTGGTCACAGTGCCTAGCTCTAGCCTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAA GGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGTGACAAGACC CACAGAAAGAGAAGAGGCTCTGGAGAAGGCAGAGGCTCCC TGCTGACATGTGGGGATGTTGAAGAGAATCCTGGGCCTATG TATAGGATGCAACTGCTCCTCCTGATTGCTCTGAGCCTGGCT CTTGTGACCAACTCTGACATCCAGATGACACAGAGCCCTAG CAGCCTGTCTGCTTCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACAT GCAGAGCCAGCCAGGGCATCAGAACTACCTGGCCTGGTAT CAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATGC AGCCAGCACACTGCAGAGTGGGGTGCCAAGCAGATTTTCAG GCTCTGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCC

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>TGCAGCCTGAGGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGAGATAC  AACAGAGCCCCATACACCTTTGGACAGGGCACAAAGGTGG  AAATCAAGAGAACAgttgacagaccctcagttttcatcttccccctcagatgaacag  CTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAACAAC  TTCTACCCCAGAGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTTGACAA  TGCCCTGCAGTCAGGCAACAGCCAAGAATCTGTGACTGAAC  AGGATTCCAAGGATAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTG  ACACTGAGCAAGGCTGACTATGAGAAGCACAAAGTGTATGC  CTGTGAAGTGACCCACCAGGGACTGAGCAGCCCAGTGACCA  AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGCTGA</p>
<p>pAAV.GR K1. Vh4i. Adalimum ab. IgG (om 5'- ITR к 3-- ITR)</p>	<p>SEQ ID NO: 52</p>	<p>ctgcgcgctcgcctcactgagccgcccgggcaaagcccgggctcgggacctttggte  gcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgagagagggtggccaactccatcactaggggtt  cctttagttaatgattaaccgcatgctacttatctaccagggtaatggggatcctCTAGAGG  GCCCCAGAAGCCTGGTGGTTGTTTGTCTTCTCAGGGGAAA  AGTGAGGCGGCCCTTGGAGGAAGGGGCCGGGCAGAATGA  TCTAATCGGATTCCAAGCAGCTCAGGGGATTGTCTTTTTCTA  GCACCTTCTTGCCACTCCTAAGCGTCCTCCGTGACCCCGGCT  GGGATTTAGCCTGGTGTGTGTGTCAGCCCCGGGCTCCCAGGG  GCTTCCCAGTGGTCCCCAGGAACCCTCGACAGGGCCAGGGC  GTCTCTCTCGTCCAGCAAGGGCAGGGACGGGCCACAGGCCA  AGGGCCAGGTGAGTATCTCAGGGATCCAGACATGGGGATAT  GGGAGGTGCCTCTGATCCCAGGGCTCACTGTGGGTCTCTCT  GTTACAGGTTGAATTCGCCACCATGTACAGAATGCAGCTG  CTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCAATTCT  GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGTGGTGGTGGACTGGTGCAGCC  TGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCTGCCTCTGGCTTCAC  CTTTGATGACTATGCCATGCACTGGGTGAGACAGGCCCTG  GCAAAGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATCACCTGGAATCT  GGCCACATTGACTATGCTGACTCTGTGGAAGGCAGATTCAC  CATCAGCAGAGACAATGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA  TGAATCCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGTACTACTGT</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>GCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACAGCCAGCAGCCTGGATTA  TTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTCTGCCAGCA  CAAAGGGCCCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCCAGCAGCAAG  AGCACCAGTGGTGGAACAGCTGCCCTGGGCTGTCTGGTCAA  GGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGAACCTCAG  GGGCTCTGACCTCTGGGGTGCACACATTTCCAGCTGTGCTGC  AGTCCTCTGGCCTGTACTCTCTGTCTCTGTGGTCACAGTGC  CTAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTG  AACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGG  AACCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGTCCTCCATGT  CCTGCTCCAGAACTGCTTGGAGGCCCTTCTGTGTTCCCTGTTT  CCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCC  TGAAGTGACCTGTGTGGTGGTTGATGTGTCCCATGAGGACC  CAGAAGTGAAGTTCAATTGGTATGTGGATGGGGTTGAAGTG  CACAATGCTAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACA  GCACCTACAGAGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTGTCATCAG  GACTGGCTGAATGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCA  ACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATTGAGAAAACCATCTCCAAG  GCCAAGGGCCAGCCAAGAGAACCCCAGGTTTACACACTGCC  ACCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGA  CCTGCCTGGTTAAGGGCTTCTACCCCTCTGACATTGCTGTGG  AATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGAC  AACCCCTCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCATTCTTCCTGTA  CAGCAAGCTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGG  AATGTGTTTCACTGCTCTGTGATGCATGAGGCCCTGCACAA  CCACTACACCCAGAAAAGTCTGAGTCTGAGCCCTGGCAAGA  GAAAGAGAAGAGGCTCTGGAGAAGGCAGAGGCTCCCTGCT  GACATGTGGGGATGTTGAAGAGAATCCTGGGCCTATGTATA  GGATGCAACTGCTCCTCCTGATTGCTCTGAGCCTGGCTCTTG  TGACCAACTCTGACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC  CTGTCTGCTTCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACATGCAG</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		AGCCAGCCAGGGAATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGC AAAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATGCAGCC AGCACACTGCAGTCAGGGGTGCCAAGCAGATTTTCAGGCTC TGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCTGCA GCCTGAGGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGAGATAACA GAGCCCCATACACCTTTGGACAGGGCACAAAGGTGGAAATC AAGAGAACAGTGGCTGCCCATCTGTGTTCATCTTCCCACC ATCTGATGAACAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTTGTGTG CCTGCTGAACAACTTCTACCCTAGAGAAGCCAAGGTGCAGT GGAAGGTTGACAATGCCCTGCAGTCTGGCAATAGCCAAGAA TCTGTGACAGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACCTACAGCCT GAGCAGCACCTGACACTGAGCAAGGCTGACTATGAGAAG CACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGACACACCAGGGACTGAG CAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGCTGAT AACtcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatcttttcctctgccaaaattatggg gacatcatgaagcccctgagcatctgacttctggctaataaaggaaattattttcattgcaatagtgt gttgaatttttgtgtctctcactcggaagcaattcgtgatctgaatttcgaccaccataataccatt accctggtagataagtagcatggcgggttaataactacaaggaacccttagtgatggagtgg ccactccctctctgegcgctcgctcgctcactgaggccgggagaccaaggctgcccgagccccg ggctttgcccgggcccctcagtgagcgagcgagcgcgag
pAAV.GR K1. Vh4i. Adalimum ab. IgG (от промотор а к поли(A))	SEQ ID NO: 53	GGGCCCCAGAAGCCTGGTGGTTGTTTGTCTTCTCAGGGGA AAAGTGAGGCGGCCCTTGGAGGAAGGGGCCGGGCAGAAT GATCTAATCGGATTCCAAGCAGCTCAGGGGATTGTCTTTTTC TAGCACCTTCTTGCCACTCCTAAGCGTCCTCCGTGACCCCGG CTGGGATTTAGCCTGGTGTGTGTCAGCCCCGGGCTCCCAG GGGCTTCCCAGTGGTCCCCAGGAACCCTCGACAGGGCCAGG GCGTCTCTCTCGTCCAGCAAGGGCAGGGACGGGCCACAGGC CAAGGGCCAGGTGAGTATCTCAGGGATCCAGACATGGGGAT ATGGGAGGTGCCTCTGATCCCAGGGCTCACTGTGGGTCTCT CTGTTACAGGTTGAATTCGCCACCATGTACAGAATGCAGC TGCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCAATT

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>CTGAAGTGCAGCTGGTGGAAAGTGGTGGTGGACTGGTGCAG  CCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCTGCCTCTGGCTTC  ACCTTTGATGACTATGCCATGCACTGGGTCAGACAGGCCCC  TGGCAAAGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATCACCTGGAACT  CTGGCCACATTGACTATGCTGACTCTGTGGAAGGCAGATTC  ACCATCAGCAGAGACAATGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCA  GATGAACTCCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGTACTACT  GTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACAGCCAGCAGCCTGGAT  TATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTCTGCCAG  CACAAAGGGCCCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCCAGCAGCA  AGAGCACCAGTGGTGGAACAGCTGCCCTGGGCTGTCTGGTC  AAGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGAACTC  AGGGGCTCTGACCTCTGGGGTGCACACATTTCCAGCTGTGC  TGCAGTCTCTGGCCTGTACTCTCTGTCTCTGTGGTCACAG  TGCCTAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAT  GTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGG  TGGAACCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGTCCTCCA  TGTCTGTCTCCAGAAGTGTGGAGGCCCTTCTGTGTTCTG  TTTCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAAC  CCCTGAAGTGACCTGTGTGGTGGTTGATGTGTCCCATGAGG  ACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTATGTGGATGGGGTTGAA  GTGCACAATGCTAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACA  ACAGCACCTACAGAGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTGCTGCAT  CAGGACTGGCTGAATGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTGT  CCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATTGAGAAAACCATCTCC  AAGGCCAAGGGCCAGCCAAGAGAACCCAGGTTTACACAC  TGCCACCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCC  CTGACCTGCCTGGTTAAGGGCTTCTACCCCTCTGACATTGCT  GTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAACACTACA  AGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCATTCTTCC  TGTACAGCAAGCTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAG</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		GGGAATGTGTTTCAGCTGCTCTGTGATGCATGAGGCCCTGCA CAACCACTACACCCAGAAAAGTCTGAGTCTGAGCCCTGGCA AGAGAAAGAGAAGAGGGCTCTGGAGAAGGCAGAGGCTCCCT GCTGACATGTGGGGATGTTGAAGAGAATCCTGGGCCTATGT ATAGGATGCAACTGCTCCTCCTGATTGCTCTGAGCCTGGCTC TTGTGACCAACTCTGACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGC AGCCTGTCTGCTTCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACATG CAGAGCCAGCCAGGGAATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATC AGCAAAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATGCA GCCAGCACACTGCAGTCAGGGGTGCCAAGCAGATTTTCAGG CTCTGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCT GCAGCCTGAGGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGAGATACA ACAGAGCCCCATACACCTTTGGACAGGGCACAAAGGTGGA AATCAAGAGAACAGTGGCTGCCCATCTGTGTTTCATCTTCCC ACCATCTGATGAACAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTTGT GTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCTAGAGAAGCCAAGGTGC AGTGGAAGGTTGACAATGCCCTGCAGTCTGGCAATAGCCAA GAATCTGTGACAGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACCTACAG CCTGAGCAGCACCTGACACTGAGCAAGGCTGACTATGAGA AGCACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGACACACCAGGGACTG AGCAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGCT GATAACtcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatcttttcctctgcaaaaatta tggggacatcatgaagcccttgagcatctgactctggctaataaaggaaatttattttcattgcaata gtgtgttgaatttttgtgtctctcactcg
pAAV.sc.E Flac.Vh4i. Adalimum ab.Fab (om 5'-ITR к 3'-ITR)	SEQ ID NO:22 2	ctgcgcgctcgtcgtcactgaggccgcccgggcaagcccgggctcgggacctttggtc gcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtgaattcacgcgtGGGCAG AGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGG GGTCGGCAATTGAACGGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGG GTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGACTGGCTCCGCCTTTTT CCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGC CGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACAC

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		AGCAGGTGAGTATCTCAGGGATCCAGACATGGGGATATGGG AGGTGCCTCTGATCCCAGGGCTCACTGTGGGTCTCTCTGTTC ACAGGTTaccggtGCCACCATGTACAGAATGCAGCTGCTGCTG CTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCAATTCTGAAGTG CAGCTGGTGGAAAGTGGTGGTGGACTGGTGCAGCCTGGCAG AAGCCTGAGACTGTCTTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTTGA TGACTATGCCATGCACTGGGTGACAGAGGCCCTGGCAAAG GACTGGAATGGGTGTCAGCCATCACCTGGAACCTCTGGCCAC ATTGACTATGCTGACTCTGTGGAAGGCAGATTCACCATCAG CAGAGACAATGCCAAGAAGCAGCCTGTACCTGCAGATGAACT CCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGTACTACTGTGCCAAG GTGTCCTACCTGAGCACAGCCAGCAGCCTGGATTATTGGGG CCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTCTGCCAGCACAAAGG GCCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCCAGCAGCAAGAGCACCA GTGGTGGAAACAGCTGCCCTGGGCTGTCTGGTCAAGGATTAC TTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGAACCTCAGGGGCTCTG ACCTCTGGGGTGCACACATTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCTCT GGCCTGTACTCTCTGTCTCTGTGGTCACAGTGCCTAGCTCT AGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAA GCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAG AGCTGTGACAAGACCCACAGAAAGAGAAGAGGGCTCTGGAG AAGGCAGAGGCTCCCTGCTGACATGTGGGGATGTTGAAGAG AATCCTGGGCCTATGTATAGGATGCAACTGCTCCTCCTGATT GCTCTGAGCCTGGCTCTTGTGACCAACTCTGACATCCAGATG ACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCTTCTGTGGGAGACAG AGTGACCATCACATGCAGAGCCAGCCAGGGCATCAGAACT ACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCTAAG CTGCTGATCTATGCAGCCAGCACACTGCAGAGTGGGGTGCC AAGCAGATTTTCAGGCTCTGGCTCTGGCACAGACTTCACCCT GACCATTTCTAGCCTGCAGCCTGAGGATGTGGCCACCTACT ACTGCCAGAGATAACAACAGAGCCCCATACACCTTTGGACAG

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>GGCACAAAGGTGGAAATCAAGAGAACAgttgcagcaccctcagtttcat  cttccccctcagatgaacagCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTTGTGT  GCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCAGAGAAGCCAAGGTGCAG  TGGAAGGTTGACAATGCCCTGCAGTCAGGCAACAGCCAAGA  ATCTGTGACTGAACAGGATTCCAAGGATAGCACCTACAGCC  TGAGCAGCACCTGACACTGAGCAAGGCTGACTATGAGAAG  CACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGACCCACCAGGGACTGAG  CAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGCTGAT  AAagcttgatcttttccctctgcaaaaattatggggacatcatgaagcccctgagcatctgactt  ctggctaataaaggaaattattttcattgcaatagtggttgaatttttgtgtctctcactcggctagc  gaagcaattctagcagcatgctggggagagatcgatctgaggaaccctagtgatggagtggc  cactccctctctgcgctcgtcgcctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggctcgggcg  accttggtcggccggcctcagtgagcgcgagcgcgcagagagggagtggccea</p>
<p>pAAV.sc.E  Flac.Vh4i.  Adalimum  ab.  Fab    <i>(от  промотор  а к  поли(A))</i></p>	<p>SEQ  ID  NO:22  3</p>	<p>GGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGG  GGGAGGGGTTCGGCAATTGAACGGGTGCCTAGAGAAGGTGG  CGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCG  CCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAG  TAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA  GAACACAGCAGGTGAGTATCTCAGGGATCCAGACATGGGG  ATATGGGAGGTGCCTCTGATCCCAGGGCTCACTGTGGGTCT  CTCTGTTACAGGTTaccggtGCCACCATGTACAGAATGCAGCT  GCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCAATTC  TGAAGTGCAGCTGGTGGAAAGTGGTGGTGGACTGGTGCAGC  CTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCTGCCTCTGGCTTCA  CCTTTGATGACTATGCCATGCACTGGGTCAGACAGGCCCT  GGCAAAGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATCACCTGGAACTC  TGCCACATTGACTATGCTGACTCTGTGGAAGGCAGATTCA  CCATCAGCAGAGACAATGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAG  ATGAACTCCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGTACTACTG  TGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACAGCCAGCAGCCTGGATT  ATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTCTGCCAGC</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>           АСAAAGGGCCCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCCAGCAGCAA            GAGCACCAGTGGTGGAACAGCTGCCCTGGGCTGTCTGGTCA            AGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGAАCTCA            GGGGCTCTGACCTCTGGGGTGCACACATTTCCAGCTGTGCT            GCAGTCCTCTGGCCTGTACTCTCTGTCTCTGTGGTCACAGT            GCCTAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAATG            TGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGT            GGAACCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACAGAAAGAGAAGA            GGCTCTGGAGAAGGCAGAGGCTCCCTGCTGACATGTGGGGA            TGTTGAAGAGAATCCTGGGCCTATGTATAGGATGCAACTGC            TCCTCCTGATTGCTCTGAGCCTGGCTCTTGTGACCAACTCTG            ACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCTTCT            GTGGGAGACAGAGTGACCATCACATGCAGAGCCAGCCAGG            GCATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGC            AAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATGCAGCCAGCACACTGCA            GAGTGGGGTGCCAAGCAGATTTTCAGGCTCTGGCTCTGGCA            CAGACTTACCCTGACCATTTCTAGCCTGCAGCCTGAGGAT            GTGGCCACCTACTACTGCCAGAGATAACAACAGAGCCCCATA            CACCTTTGGACAGGGCACAAAGGTGGAAATCAAGAGAACA            gttgcagcaccctcagtttcatcttccccctcagatgaacagCTGAAGTCTGGCACT            GCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAACAАCTTCTACCCCAGAGAA            GCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTTGACAATGCCCTGCAGTCAGG            CAACAGCCAAGAATCTGTGACTGAACAGGATTCCAAGGATA            GCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACACTGAGCAAGGCT            GACTATGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGACCCA            CCAGGGACTGAGCAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACAGG            GGAGAGTGCTGATAAaagettgatcttttccctctgccccaaattatggggacatcatg            aagccccttgagcatctgacttctggctaataaaggaaatttatttccattgcaatagtgtgtggaatttt            ttgtgtctctcactcg         </p>
pAAV.sc. mU1a.Vh4i	SEQ ID	<p>           ctgcgcgctcgcctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggctcgggacctttggtc            gcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggaattcaCGCGTATGG         </p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
.Adalimum ab.Fab (om 5'-ITR к 3'-ITR)	NO:22 4	AGGCGGTACTATGTAGATGAGAATTCAGGAGCAAACCTGGG AAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTTACAGTGTAG TTTTGGAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTGTTTT AAAATGTGGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTTTT AATGAGGCTTAAATATTTACCGTAACTATGAAATGCTACGC ATATCATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTCATACTC AGGTGAGTATCTCAGGGATCCAGACATGGGGATATGGGAG GTGCCTCTGATCCCAGGGCTCACTGTGGGTCTCTCTGTTCAC AGGTTaccggtGCCACCATGTACAGAATGCAGCTGCTGCTGCT CATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCAATTCTGAAGTGCA GCTGGTGGAAAGTGGTGGTGGACTGGTGCAGCCTGGCAGAA GCCTGAGACTGTCTTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTTGATG ACTATGCCATGCACTGGGTCAGACAGGCCCTGGCAAAGGA CTGGAATGGGTGTCAGCCATCACCTGGAACCTCTGGCCACAT TGACTATGCTGACTCTGTGGAAGGCAGATTCACCATCAGCA GAGACAATGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACTCC CTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGTACTACTGTGCCAAGGT GTCCTACCTGAGCACAGCCAGCAGCCTGGATTATTGGGGCC AGGGCACACTGGTTACAGTGTCTCTGCCAGCACAAAGGGC CCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCCAGCAGCAAGAGCACCAGT GGTGGAACAGCTGCCCTGGGCTGTCTGGTCAAGGATTACTT CCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGAACCTCAGGGGCTCTGA CCTCTGGGGTGCACACATTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCTCTG GCCTGACTCTCTGTCTCTGTGGTCACAGTGCCTAGCTCTA GCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCACAAG CCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGA GCTGTGACAAGACCCACAGAAAGAGAAGAGGCTCTGGAGA AGGCAGAGGCTCCCTGCTGACATGTGGGGATGTTGAAGAGA ATCCTGGGCCTATGTATAGGATGCAACTGCTCCTCCTGATTG CTCTGAGCCTGGCTCTTGTGACCAACTCTGACATCCAGATGA CACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCTTCTGTGGGAGACAGA

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>GTGACCATCACATGCAGAGCCAGCCAGGGCATCAGAACTA  CCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCCCTAAGC  TGCTGATCTATGCAGCCAGCACACTGCAGAGTGGGGTGCCA  AGCAGATTTTCAGGCTCTGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTG  ACCATTTCTAGCCTGCAGCCTGAGGATGTGGCCACCTACTA  CTGCCAGAGATAACAACAGAGCCCCATACACCTTTGGACAGG  GCACAAAGGTGGAAATCAAGAGAACAgttcgagcaccctcagtttcatct  tccccctcagatgaacagCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTTGTGTG  CCTGCTGAACAACCTTCTACCCAGAGAAGCCAAGGTGCAGT  GGAAGGTTGACAATGCCCTGCAGTCAGGCAACAGCCAAGA  ATCTGTGACTGAACAGGATTCCAAGGATAGCACCTACAGCC  TGAGCAGCACCTGACACTGAGCAAGGCTGACTATGAGAAG  CACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGACCCACCAGGGACTGAG  CAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGCTGAT  AAagcttgatcttttccctctgcaaaaattatggggacatcatgaagcccctgagcatctgactt  ctggctaataaaggaaatttattttcattgcaatagtgtgttgaatttttgtgtctctcactcggctagc  gaagcaattctagcaggcatgctggggagagatcgatctgaggaaccctagtgatggagttggc  cactccctctctgcgcgctcgtcgcctcactgagccgcccgggcaagcccgggctcgggcg  acctttggtcgcccggcctcagtgagcgagcgagcgcgagagagggagtggcaa</p>
<p>pAAV.sc.  mU1a.Vh4i  .Adalimum  ab.Fab  (от  промотор  а к  поли(A))</p>	<p>SEQ  ID  NO:22  5</p>	<p>ATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAGAATTCAGGAGCAA  ACTGGGAAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTTTACAGT  GTAGTTTTGGAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAGTG  TTTTAAAATGTGGGAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTG  TTTTAATGAGGCTTAAATATTTACCGTAACTATGAAATGCTA  CGCATATCATGCTGTTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACTCAT  ACTCAGGTGAGTATCTCAGGGATCCAGACATGGGGATATGG  GAGGTGCCTCTGATCCCAGGGCTCACTGTGGGTCTCTCTGTT  CACAGGTTaccggtGCCACCATGTACAGAATGCAGCTGCTGCT  GCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCAATTCTGAAGT  GCAGCTGGTGGAAAGTGGTGGTGGACTGGTGCAGCCTGGCA  GAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCTGCCTCTGGCTTCACCTTTG</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>           ATGACTATGCCATGCACTGGGTCAGACAGGCCCCCTGGCAA            GGACTGGAATGGGTGTCAGCCATCACCTGGA ACTCTGGCCA            CATTGACTATGCTGACTCTGTGGAAGGCAGATTCACCATCA            GCAGAGACAATGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAA            CTCCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGTACTACTGTGCCA            AGGTGTCCTACCTGAGCACAGCCAGCAGCCTGGATTATTGG            GGCCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTCTGCCAGCACAAA            GGGCCCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCCAGCAGCAAGAGCA            CCAGTGGTGGAACAGCTGCCCTGGGCTGTCTGGTCAAGGAT            TACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGA ACTCAGGGGCT            CTGACCTCTGGGGTGCACACATTTCCAGCTGTGCTGCAGTCC            TCTGGCCTGTACTCTCTGTCCTCTGTGGTCACAGTGCCTAGC            TCTAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGAACCA            CAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCC            AAGAGCTGTGACAAGACCCACAGAAAGAGAAGAGGCTCTG            GAGAAGGCAGAGGCTCCCTGCTGACATGTGGGGATGTTGAA            GAGAATCCTGGGCCTATGTATAGGATGCAACTGCTCCTCCT            GATTGCTCTGAGCCTGGCTCTTGTGACCAACTCTGACATCCA            GATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCTTCTGTGGGAG            ACAGAGTGACCATCACATGCAGAGCCAGCCAGGGCATCAG            AA ACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGCAAGGCC            CTAAGCTGCTGATCTATGCAGCCAGCACACTGCAGAGTGGG            GTGCCAAGCAGATTTTCAGGCTCTGGCTCTGGCACAGACTT            CACCCTGACCATTTCTAGCCTGCAGCCTGAGGATGTGGCCA            CCTACTACTGCCAGAGATAACAACAGAGCCCCATACACCTTT            GGACAGGGCACAAAGGTGGAAATCAAGAGAACAgttgagcacc            ctcagtttcatcttccccctcagatgaacagCTGAAGTCTGGCACTGCCTCT            GTTGTGTGCCTGCTGAACA ACTTCTACCCAGAGAAGCCAA            GGTGCAGTGGAAGGTTGACAATGCCCTGCAGTCAGGCAACA            GCCAAGAATCTGTGACTGAACAGGATTCCAAGGATAGCACC            TACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACACTGAGCAAGGCTGACTA         </p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		TGAGAAGCACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGACCCACCAGG GACTGAGCAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGAGA GTGCTGATAAaagcttgatcttttccctctgccaaaattatggggacatcatgaagccct tgagcatctgactctggctaataaaggaaattattttcattgcaatagtgtgtggaatttttgtgtctct cactcg
pAAV.CB. VH4.Adali mumab (от промотор а к поли(A))	SEQ ID NO: 276	gacgacattgattattgactagttattaatagtaataaattacggggcattagttcatagcccatatag gagttccgcgttacataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgccaacgacccccgcca ttgacgtcaataatgacgtatgttccatagtaacgccaatagggactttcattgacgtcaatgggtg gagtattacggtaactgccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaaagtacgccccctatt gacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgccagtacatgacctatgggactttctac ttggcagtacatctacgtattagtcacgtattaccatggctgaggtgagccccacgttctgcttact ctccccatctccccccctccccacccccattttgtattatttttttaattattttgtgcagcgatgg ggggggggggggggggggggcgcgcgccaggcggggcgggggcgggggcgagggggcgggg cggggagggcgagaggtgcggcgagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtttctttt atggcgagggcgggcgggcgggcgccctataaaaagcgaagcgcggcgggcgggcgagcgcgt CAGGTGAGTATCTCAGGGATCCAGACATGGGGATATGGGAG GTGCCTCTGATCCCAGGGCTCACTGTGGGTCTCTCTGTTAC AGGTTgAccgagtgAATTCGCCACCATGTACAGAATGCAGCTGC TGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCAATTCTG AAGTGCAGCTGGTGGAAAGTGGTGGTGGACTGGTGCAGCCT GGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCTGCCTCTGGCTTCACC TTTGATGACTATGCCATGCACTGGGTGTCAGACAGGCCCTGG CAAAGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATCACCTGGAACCTCTG GCCACATTGACTATGCTGACTCTGTGGAAGGCAGATTCACC ATCAGCAGAGACAATGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGAT GAACTCCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGTACTACTGTG CCAAGGTGTCCTACCTGAGCACAGCCAGCAGCCTGGATTAT TGGGGCCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTCTGCCAGCAC AAAGGGCCCCTCTGTTTTTCCACTGGCTCCAGCAGCAAGA GCACCAGTGGTGGAAACAGCTGCCCTGGGCTGTCTGGTCAAG GATTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGAACTCAGG

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		GGCTCTGACCTCTGGGGTGCACACATTTCCAGCTGTGCTGCA GTCCTCTGGCCTGTA CTCTCTGTCCTCTGTGGTCACAGTGCC TAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAATGTGA ACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGA ACCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGTCTCCATGTC CTGCTCCAGAACTGCTTGGAGGCCCTTCTGTGTTCTGTTTC CTCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCT GAAGTGACCTGTGTGGTGGTTGATGTGTCCCATGAGGACCC AGAAGTGAAGTTCAATTGGTATGTGGATGGGGTTGAAGTGC ACAATGCTAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAG CACCTACAGAGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCATCAGG ACTGGCTGAATGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAAC AAGGCCCTGCCTGCTCCTATTGAGAAAACCATCTCCAAGGC CAAGGGCCAGCCAAGAGAACCCAGGTTTACACACTGCCAC CTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC TGCCTGGTTAAGGGCTTCTACCCCTCTGACATTGCTGTGGAA TGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACA ACTACAAGACAA CCCCTCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCATTCTTCTGTACA GCAAGCTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGGAA TGTGTT CAGCTGCTCTGTGATGCATGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAAAGTCTGAGTCTGAGCCCTGGCAAGAGA AAGAGAAGAGGCTCTGGAGAAGGCAGAGGCTCCCTGCTGA CATGTGGGGATGTTGAAGAGAATCCTGGGCCTATGTATAGG ATGCAACTGCTCCTCCTGATTGCTCTGAGCCTGGCTCTTGTG ACCAACTCTGACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCT GTCTGCTTCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACATGCAGAG CCAGCCAGGGAATCAGAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAA AAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATGCAGCCAG CACTGTCAGTCAGGGGTGCCAAGCAGATTTTCAGGCTCTG GCTCTGGCACAGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCTGCAGC CTGAGGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGAGATAACAACAGA

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p>GCCCCATACACCTTTGGACAGGGCACAAAGGTGGAAATCAA  GAGAACAGTGGCTGCCCCATCTGTGTTTCATCTTCCCACCATC  TGATGAACAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTTGTGTGCCT  GCTGAACAACCTTCTACCCTAGAGAAGCCAAGGTGCAGTGGAA  AGGTTGACAATGCCCTGCAGTCTGGCAATAGCCAAGAATCT  GTGACAGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACCTACAGCCTGAG  CAGCACCTGACACTGAGCAAGGCTGACTATGAGAAGCACAA  AAGTGTATGCCTGTGAAGTGACACACCAGGGACTGAGCAGC  CCAGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGCTGATAACT  cgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatcttttccctctgcaaaaattatggggacatc  atgaagccccttgagcatctgactctggctaataaaggaaatttttattgcaatagtgtgtggaa  tttttgtgtctctcactcg</p>
<p>pAAV.CB.  VH4.Adali  mumab  (<i>om ITR K</i>  <i>ITR</i>)</p>	<p>SEQ  ID  NO:  277</p>	<p>ctgcgcgctcgcctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggctcgggacaccttggtc  gcccggcctcagtgagcgcgagcgcgcagagaggagtgccaactccatcactaggggtt  ccttgtagttaatgattaaccgccatgctacttatctaccagggtaatggggatcctctagaactatag  ctagtcgacgacattgattattgactagttattaatagtaataattacggggtcattagttcatagccca  tatatggagttccgcgttacataactacggtaaatggcccgcctggctgaccgccaacgaccccc  gcccattgacgtcaataatgacgtatgtcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaat  gggtggagtatttacggtaactgccacttgccagtcacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccc  cctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtcacatgacctatgggacttt  cctacttggcagtcacatctacgtattagtcacgctattaccatggctcaggtgagccccacgttctgc  ttcactctccccatctccccccctccccaccccaattttgtatttttttttaattttttgtgcagc  gatgggggccccggggggggggggggggcgcgccaggcggggcggggcgaggggg  cggggcggggcgaggcggagaggtgcggcggcagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtt  tcctttatggcgaggcggcggcggcggcggccctataaaaagcgaagcgcgcgggcggcgga  cgcgtCAGGTGAGTATCTCAGGGATCCAGACATGGGGATATGG  GAGGTGCCTCTGATCCCAGGGCTCACTGTGGGTCTCTCTGTT  CACAGGTTgAccgagtgAATTCGCCACCATGTACAGAATGCAGC  TGCTGCTGCTCATTGCCCTGTCTCTGGCCCTGGTCACCAATT  CTGAAGTGCAGCTGGTGGAAAGTGGTGGTGGACTGGTGCAG  CCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCTGCCTCTGGCTTC</p>

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		ACCTTTGATGACTATGCCATGCACTGGGTCAGACAGGCCCC TGGCAAAGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATCACCTGGAAC CTGGCCACATTGACTATGCTGACTCTGTGGAAGGCAGATTC ACCATCAGCAGAGACAATGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCA GATGAACTCCCTGAGAGCTGAGGACACAGCAGTGTACTACT GTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGCACAGCCAGCAGCCTGGAT TATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTCTGCCAG CACAAAGGGCCCCTCTGTTTTTTCCACTGGCTCCCAGCAGCA AGAGCACCAGTGGTGGAACAGCTGCCCTGGGCTGTCTGGTC AAGGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTTGGAACTC AGGGGCTCTGACCTCTGGGGTGCACACATTTCCAGCTGTGC TGCAGTCCTCTGGCCTGTACTCTCTGTCCTCTGTGGTCACAG TGCCTAGCTCTAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAT GTGAACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGG TGGAACCCAAGAGCTGTGACAAGACCCACACCTGTCCTCCA TGTCTGTCCAGAACTGCTTGGAGGCCCTTCTGTGTTCTG TTTCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAAC CCCTGAAGTGACCTGTGTGGTGGTTGATGTGTCCCATGAGG ACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTATGTGGATGGGGTTGAA GTGCACAATGCTAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACA ACAGCACCTACAGAGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTGCTGCAT CAGGACTGGCTGAATGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGTGT CCAACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATTGAGAAAACCATCTCC AAGGCCAAGGGCCAGCCAAGAGAACCCAGGTTTACACAC TGCCACCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCC CTGACCTGCCTGGTTAAGGGCTTCTACCCCTCTGACATTGCT GTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAACACTACA AGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCATTCTTCC TGTACAGCAAGCTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAG GGGAATGTGTTTCAAGCTGCTCTGTGATGCATGAGGCCCTGCA CAACCACTACACCCAGAAAAGTCTGAGTCTGAGCCCTGGCA

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		AGAGAAAGAGAAGAGGCTCTGGAGAAGGCAGAGGCTCCCT GCTGACATGTGGGGATGTTGAAGAGAATCCTGGGCCTATGT ATAGGATGCAACTGCTCCTCCTGATTGCTCTGAGCCTGGCTC TTGTGACCAACTCTGACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGC AGCCTGTCTGCTTCTGTGGGAGACAGAGTGACCATCACATG CAGAGCCAGCCAGGGAATCAGAACTACCTGGCCTGGTATC AGCAAAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATGCA GCCAGCACACTGCAGTCAGGGGTGCCAAGCAGATTTTCAGG CTCTGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGACCATTTCTAGCCT GCAGCCTGAGGATGTGGCCACCTACTACTGCCAGAGATACA ACAGAGCCCCATACACCTTTGGACAGGGCACAAGGTGGA AATCAAGAGAACAGTGGCTGCCCCATCTGTGTTCATCTTCCC ACCATCTGATGAACAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTTGT GTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCTAGAGAAGCCAAGGTGC AGTGGAAGGTTGACAATGCCCTGCAGTCTGGCAATAGCCAA GAATCTGTGACAGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACCTACAG CCTGAGCAGCACCTGACACTGAGCAAGGCTGACTATGAGA AGCACAAAGTGTATGCCTGTGAAGTGACACACCAGGGACTG AGCAGCCCAGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGCT GATAACtcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatcttttcctctgccaaaatta tggggacatcatgaagccccttgagcatctgactctggctaataaaggaaatttatttcattgcaata gtgtgttgaatttttgtgtctctcactcggaagcaattcggtgatctgaattcgaccaccataatac ccattaccctggtagataagtagcatggcgggtaatacattaactacaaggaaccctagtgatgga gttggccactccctctctgcgctcgctcgctcactgaggccgggaccaaaggctgcccgcac gcccgggctttgccgggcccctcagtgagcgagcgagcgcgag
Тяжелая цепь адалимуа ба (HC) IgG1	SEQ ID NO: 54	gaagtgcagctggtgaaagtgggtggactggtgcagcctggcagaagcctgagactgtctgt gctgcctctggctcacctttgatgactatgcatgactgggtcagacaggcccctggcaaaggac tggaatgggtgtcagccatcacctggaactctggccacattgactatgctgactctgtggaaggcag attccatcagcagagacaatgccaagaacagcctgtacctgcagatgaactccctgagagctga ggacacagcagtgactactgtgccaaggtgtcctacctgagcacagccagcagcctggattattg gggccagggcacactggttacagtgtcctctgcccagcacaaggccctctgttttccactgg

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
		<p><b>ctcccagcagcaagagcaccagtggtggaacagctgccctgggctgtctgggtcaaggattac tccctgagcctgtgacagtgtcttggaaactcaggggctctgacctctggggtgcacacattc cagctgtgctgcagtcctctggcctgtactctctgtctctgtggtcacagtgcctagctctagcc tgggcaccagacctacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaaacaccaaggtggacaa gaaggtggaaccaagagctgtgacaagaccacacctgtctccatgtctctgctccagaact gcttggaggcccttctgtgttctgtttctccaaagcctaaggacacctgatgatcagcaga accttgaagtgacctgtgtgggtggtgatgtgtcccatgaggaccagaagtgaagtcaat tggtatgtggatgggggtgaagtgcacaatgctaagaccaagcctagagaggaacagtaca acagcacctacagagtgggtgtctgtgctgacagtgtgcatcaggactggctgaatggcaaa gagtacaagtgcaaagtgtccaacaaggccctgctgctctattgagaaaacctctccaa ggccaagggccagccaagagaaccccagggtttacacactgccacctagcagagatgagctg accaagaaccaggtgtccctgacctgctggttaagggtcttaccctctgacattgtgtgg aatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaagacaacccctctgtgtgactct gatggctcattctctgtacagcaagctgactgtggacaagtccagatggcagcaggggaat gtttcagctgctctgtgatgcatgaggccctgcacaaccctacaccagaaaagtctgagt ctgagccctggcaag</b></p> <p><i>CH1 и CH2 IgG1 выделены жирным шрифтом; шарнирная область выделена курсивом.</i></p>
VH адалимуа ба	SEQ ID NO: 55	<p>Gaagtgcagctggtgaaagtgggtggactggtgcagcctggcagaagcctgagactgtctg tctgacctgtggttcacctttgatgactatgcatgactgggtcagacaggccctggcaagga ctggaatgggtgtcagccatcacctggaactctggccacattgactatgctgactctgtggaaggca gattcacatcagcagagacaatgccaagaacagcctgtacctgcagatgaactcctgagagctg aggacacagcagtgactactgtgccaaggtgtcctacctgagcagaccagcagcctggattatt ggggccagggcacactggttacagtgtcctct</p> <p><i>CDR подчеркнуты.</i></p>
IgG1 CH1	SEQ ID NO: 56	<p>gccagcacaaggggccctctgttttccactggctcccagcagcaagagcaccagtggtggaac agctgccctgggctgtctgggtcaaggattactccctgagcctgtgacagtgtcttggaaactcaggg gctctgacctctggggtgcacacattccagctgtgctgagtcctctggcctgtactctctgtcctctg tggtcacagtgcctagctctagcctgggcaccagacctacatctgcaatgtgaaccacaagccta gcaacaccaaggtggacaagaaggtg</p>
IgG1 CH2	SEQ	gctccagaactgcttggaggcccttctgtgttctgtttctccaaagcctaaggacacctgatgatc

Название мкАт или конструкц ии	Цепь/ SEQ ID NO:	Последовательности
	ID NO: 57	agcagaaccctgaagtgacctgtgtggtggtgatgtgtcccatgaggaccagaagtgaagttc aattggtatgtggatgggggtgaagtgcacaatgctaagaccaagcctagagaggaacagtacaac agcacctacagagtgggtgtctgtgctgacagtgctgcatcaggactggctgaatggcaaagagtac aagtgcaaagtgtccaacaaggccctgctgctcctattgagaaaaccatctccaaggccaagggc cagccaagagaaccccaggttacactgccacctagcagagatgagctgaccaagaaccaggt gtccctgacctgctggtaagggcttctaccctctgacattgctgtggaatgggagagcaatggc cagcctgagaacaactacaagacaaccctcctgtgctggactctgatggctcattctctgtacag caagctgactgtggacaagtccagatggcagcaggggaatgtgttcagctgctctgtgatgcatga ggccctgcacaaccactacaccagaaaagtctgagtctgagccctggcaag
Легкая цепь (каппа) адалимума ба	SEQ ID NO: 58	gctccagaactgcttgaggcccttctgtgttctgtttcctcaaagcctaaggacaccctgatgatc agcagaaccctgaagtgacctgtgtggtggtgatgtgtcccatgaggaccagaagtgaagttc aattggtatgtggatgggggtgaagtgcacaatgctaagaccaagcctagagaggaacagtacaac agcacctacagagtgggtgtctgtgctgacagtgctgcatcaggactggctgaatggcaaagagtac aagtgcaaagtgtccaacaaggccctgctgctcctattgagaaaaccatctccaaggccaagggc cagccaagagaaccccaggttacactgccacctagcagagatgagctgaccaagaaccaggt gtccctgacctgctggtaagggcttctaccctctgacattgctgtggaatgggagagcaatggc cagcctgagaacaactacaagacaaccctcctgtgctggactctgatggctcattctctgtacag caagctgactgtggacaagtccagatggcagcaggggaatgtgttcagctgctctgtgatgcatga ggccctgcacaaccactacaccagaaaagtctgagtctgagccctggcaag
VL адалимума ба	SEQ ID NO: 59	Gacatccagatgacacagagccctagcagcctgtctgcttctgtgggagacagagtgaccatcac atgcagagccagccaggggaatcagaaactacctggcctggatcagcaaaagcctggcaagggc cctaagctgctgatctatgagccagcactgcagtcaggggtgccaagcagatttccaggctctg gctctggcacagacttaccctgaccatttctagcctgcagcctgaggatgtggccactactactgc cagagatacaacagagccccatacacctttggacagggcacaaggtggaaatcaag <i>CDR подчеркнуты.</i>
С-домен легкой цепи (CL) адалимума ба	SEQ ID NO: 60	agaacagttgcagcaccctcagtttcatcttccccctcagatgaacagctgaagtctggcactgc ctctgttgtgtgcctgctgaacaactctacccagagaagccaaggtgcagtggaaggttgacaat gccctgcagtcaggcaacagccaagaatctgtgactgaacaggattccaaggatagcacctacag cctgagcagcaccctgacactgagcaaggctgactatgagaagcacaagtgatgctgtgaagt gaccaccagggactgagcagcccagtgaccaagagcttcaacaggggagagtgtga

### *Способы генной терапии*

[0176] Предложены способы лечения людей от неинфекционного увеита путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб и представляет собой, например, полноразмерное или по существу полноразмерное антитело или его фрагмент Fab, или его другой антигенсвязывающий фрагмент.

[0177] В вариантах осуществления у пациента диагностирован неинфекционный увеит и/или имеются симптомы, связанные с ним. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.1, а иллюстративные трансгены представлены выше. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ткани глаза человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8, AAV3B или AAVrh73. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на **Фиг. 2А-2С**, можно вводить любым способом, чтобы рекомбинантный вектор проникал в одну или более клеток ткани глаза. В конкретных вариантах осуществления трансген представляет собой CAG.Adalimumab.T2A.IgG (SEQ ID NO: 48); CAG.Adalimumab.Fab (SEQ ID NO: 51); GRK1.Vh4i.Adalimumab.IgG (SEQ ID NO: 53), mU1a.Vh4i.Adalimumab.Fab (SEQ ID NO:224), EF1a.Vh4i.Adalimumab.Fab (SEQ ID NO:222), CB.VH4.adalimumab (SEQ ID NO: 276), CBlong.VH4.adalimumab или Best1.GRK1.VH4i.adalimumab в векторе AAV8.

[0178] Субъекты, для которых проводили такую генную терапию, могут представлять собой субъектов, которые отвечают на терапию анти-TNF $\alpha$ . В определенных вариантах осуществления способы включают лечение пациентов, у которых был диагностирован неинфекционный увеит или у которых имеется один или более симптомов, связанных с ним, и которые идентифицированы как чувствительные к лечению антителом к TNF $\alpha$ , Fc-слитым белком к TNF $\alpha$  или считающихся хорошим кандидатом для терапии антителом к TNF $\alpha$  или Fc-слитым белком к TNF $\alpha$ . В конкретных вариантах осуществления пациентов ранее лечили этанерцептом, адалимумабом, инфликсимабом или голимумабом, и было обнаружено, что они отвечают на этанерцепт, адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб. В других вариантах осуществления пациенты ранее получали лечение антителом к TNF-альфа или слитым белком, таким как этанерцепт, цертолизумаб или другим агентом к TNF-альфа. Для определения чувствительности продукт трансгена к TNF $\alpha$  (например, полученный в клеточной культуре, биореакторах и т. д.) можно вводить непосредственно субъекту.

### *Человеческие посттрансляционно модифицированные антитела*

[0179] Продукция чПМ мкАт или чПМ Fab к TNF $\alpha$  должно привести к получению молекулы «с улучшенными характеристиками» для лечения ангионевротического отека с помощью генной терапии, например, путем введения вирусного вектора или другой конструкции для экспрессии ДНК, кодирующей чПМ Fab к TNF $\alpha$ , субретинально, интравитреально, интракамерально, супрахориоидально или внутривенно субъектам-людям (пациентам), у которых диагностирован или имеется один или более симптомов неинфекционного увеита, для создания постоянного депо в глазу (и/или в печени и/или в мышцах), который непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, человеческий гликозилированный, сульфатированный продукт трансгена, продуцируемый трансдуцированными клетками ткани глаза.

[0180] В конкретных вариантах осуществления чПМ мкАт к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающий фрагмент имеет тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями частей Fab тяжелой и легкой цепей адалимумаба, как показано на Фиг. 2А (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N); и сайты O-сульфатирования по тирозину (Y), как указано в легенде) имеет гликозилирование, особенно 2,6-сиалирование в одном или более положениях аминокислот N54, Q113 и/или N163 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 1) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 2). Альтернативно или в дополнение к этому чПМ мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями переменных доменов тяжелой и легкой цепей адалимумаба имеют группа сульфатирования в Y32, Y94, и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 1) или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 2). В других вариантах осуществления чПМ мкАт к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо детектируемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо детектируемых фрагментов альфа-Gal. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное мкАт с областью Fc.

[0181] В конкретных вариантах осуществления чПМ мкАт к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающий фрагмент имеют тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями частей Fab тяжелой и легкой цепей инфликсимаба, как показано на Фиг. 2В (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N) и сайтами O-сульфатирования по тирозину (Y), как указано в легенде) имеет гликозилирование, в частности 2,6-сиалирование по одному или более аминокислотным положениям N57, N101, Q112 и/или N162 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 3) или N41, N76, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 4). Альтернативно или в дополнение к этому, чПМ мкАт или его

антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями варьируемых доменов тяжелой и легкой цепей инфликсимаба имеют группу сульфатирования в Y96 и/или Y97 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 3) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 4). В других вариантах осуществления чПМ мкАт к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо детектируемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо детектируемых фрагментов альфа-Gal. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное мкАт с областью Fc.

[0182] В конкретных вариантах осуществления чПМ мкАт к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающий фрагмент имеют тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями частей Fab тяжелой и легкой цепей голиумаба, как показано на Фиг. 2С (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N) и сайтами O-сульфатирования по тирозину (Y), как указано в легенде) имеет гликозилирование, в частности 2,6-сиалирование по одному или более аминокислотным положениям N80, Q121, и/или N171 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 5) или N162 и/или N214 легкой цепи (SEQ ID NO: 6). Альтернативно или в дополнение к этому, чПМ мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями варьируемых доменов тяжелой и легкой цепей голиумаба имеют группу сульфатирования в Y112, Y113 и/или Y114 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 5) и/или Y89 и/или Y90 легкой цепи (SEQ ID NO: 6). В других вариантах осуществления чПМ мкАт к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит каких-либо детектируемых фрагментов NeuGc и/или не содержит каких-либо детектируемых фрагментов альфа-Gal. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное мкАт с областью Fc.

[0183] В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт или Fab являются терапевтически эффективными и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилированы и/или сульфатированы и могут быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилированными и/или сульфатированными. Целью генной терапии, представленной в данном документе, является замедление или остановка прогрессирования или облегчение одного или более симптомов неинфекционного увеита, например, снижение уровня боли, покраснения глаз, чувствительности к свету и/или другого дискомфорта у пациента. Эффективность можно контролировать, измеряя уменьшение боли, покраснения глаз и/или светобоязни и/или улучшения зрения.

[0184] Комбинации доставки чПМ мкАт к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающего

фрагмента в глаз, печень и/или мышцы, сопровождаемой доставкой других доступных средств лечения, охватываются способами, представленными в данном документе. Дополнительные средства для лечения можно вводить до, одновременно, или после генной терапии. Доступные средства для лечения субъекта с неинфекционным увеитом, которые можно комбинировать с генной терапией, предложенной в данном документе, включают, помимо прочего, азатиоприн, метотрексат, микофенолятмофетил, циклоспорин, циклофосфамид, кортикостероиды (местные и/или системные) и другие, и введение с агентами к TNF $\alpha$ , включая, помимо прочего, адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб.

#### **5.4.2. Введение дозы антител к TNF $\alpha$**

[0185] В разделах 5.2. и 5.4.1 описаны рекомбинантные векторы, которые содержат трансген, кодирующий чПМ мкАт или чПМ Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент чПМ мкАт), который связывается с TNF $\alpha$ . Терапевтически эффективные дозы любого такого рекомбинантного вектора следует вводить любым способом, чтобы рекомбинантный вектор проникал в клетки ткани глаза (например, клетки сетчатки), например, путем введения рекомбинантного вектора в кровотоки. Альтернативно, вектор можно вводить непосредственно в глаз, например, путем субретинальной, интравитреальной, интракамеральной, супрахориоидальной инъекции. В конкретных вариантах осуществления вектор вводят субретинально, интравитреально, интракамерально, супрахориоидально, подкожно, внутримышечно или внутривенно. Субретинальное, интравитреальное, интракамеральное, супрахориоидальное введение должно приводить к экспрессии растворимого продукта трансгена в клетках глаза. Экспрессия трансгена, кодирующего антитело к TNF $\alpha$ , создает постоянное депо в одной или более клетках ткани глаза пациента, которое непрерывно поставляет чПМ мкАт к TNF $\alpha$  или антигенсвязывающий фрагмент мкАт к TNF $\alpha$  в ткани глаза у субъекта.

[0186] В конкретных вариантах осуществления представлены дозы, которые поддерживают концентрацию продукта трансгена антитела к TNF $\alpha$  в плазме на уровне  $C_{min}$ , равной по меньшей мере 0,5 мкг/мл или по меньшей мере 1 мкг/мл (например,  $C_{min}$ , равной от 1 до 10 мкг/мл, от 3 до 30 мкг/мл или от 5 до 15 мкг/мл или от 5 до 30 мкг/мл).

[0187] В конкретных вариантах осуществления представлены дозы, которые поддерживают концентрацию в плазме крови антитела адалимумаба или его антигенсвязывающего фрагмента на уровне  $C_{min}$ , равной по меньшей мере 5 мкг/мл (например,  $C_{min}$ , равной от 5 до 10 мкг/мл или от 10 до 20 мкг/мл), предпочтительно  $C_{min}$ , равной от около 8 мкг/мл до 9 мкг/мл.

[0188] В конкретных вариантах осуществления представлены дозы, которые поддерживают концентрацию антитела инфликсимаба или его антигенсвязывающего

фрагмента в плазме на уровне  $C_{min}$ , равной по меньшей мере 2 мкг/мл (например,  $C_{min}$ , равной от 2 до 10 мкг/мл или от 10 до 20 мкг/мл), предпочтительно на уровне  $C_{min}$ , равной от около 5 мкг/мл до 6 мкг/мл.

[0189] Однако во всех случаях, поскольку продукт трансгена продуцируется непрерывно, поддержание более низких концентраций может быть эффективным. Тем не менее, поскольку продукт трансгена продуцируется непрерывно, поддержание более низких концентраций может быть эффективным. Концентрация продукта трансгена может быть измерена в образцах сыворотки крови пациента.

[0190] Фармацевтические композиции, подходящие для внутривенного, внутримышечного, подкожного или печеночного введения, содержат суспензию рекомбинантного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к TNF $\alpha$ , или его антигенсвязывающий фрагмент, в буфере для состава, содержащем физиологически совместимый водный буфер. Буфер для состава может содержать один или более из полисахаридов, поверхностно-активных веществ, полимеров или масел.

### **5.5 Конструкции чПМ анти-IL6 и анти-IL6R и составы для лечения неинфекционного увеита**

[0191] Описаны композиции и способы доставки чПМ мкАт и их антигенсвязывающих фрагментов, таких как чПМ Fab, которые связываются с рецептором интерлейкина-6 (IL6R) или интерлейкином-6 (IL6), полученные из антитела к IL6R или к IL6, такие как сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилизумаб (**Фиг. 3А-3Н**), предназначенные для лечения неинфекционного увеита. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт имеет аминокислотную последовательность сатрализумаба, сарилумаба, тоцилизумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба или герилизумаба или их антигенсвязывающего фрагмента. Аминокислотные последовательности фрагментов Fab антитела представлены на **Фиг. 3А-3Н**. Доставка может осуществляться посредством генной терапии, например, путем введения вирусного вектора или другой конструкции для экспрессии ДНК, кодирующей IL6R-связывающее или IL6-связывающее чПМ мкАт (или антигенсвязывающий фрагмент и/или гипергликозилированное производное или другое его производное) пациентам (субъектам-людям), у которых выявлен один или более симптомов неинфекционного увеита, или, альтернативно, нуждающимся в лечении, подавлении или ослаблении вредного иммунного ответа для создания постоянного депо, которое постоянно обеспечивает чПМ, например, человеческий гликозилированный продукт трансгена.

#### ***Трансгены***

[0192] Предложены рекомбинантные векторы, содержащие трансген, кодирующий

чПМ мкАт или чПМ Fab (или другой антигенсвязывающий фрагмент чПМ мкАт), который связывается с IL6R или IL6, которые можно вводить для доставки чПМ мкАт или антигенсвязывающего фрагмента пациенту. Трансген представляет собой нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидные последовательности, кодирующие антигенсвязывающий фрагмент антитела, который связывается с IL6R или IL6, такого как сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилизумаб, или их варианты из них, как подробно описано в данном документе. Трансген может также кодировать антигенсвязывающий фрагмент к IL6R или IL6, который содержит дополнительные сайты гликозилирования (см., например, Courtois et al.).

[0193] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи части Fab сатрализумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 7 и 8, соответственно, см. **таблицу 7** и **Фиг. 3А**). Нуклеотидные последовательности могут быть оптимизированы по кодонам для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, включать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 32 (кодирует часть Fab тяжелой цепи сатрализумаба) и SEQ ID NO: 33 (кодирует часть Fab легкой цепи сатрализумаба), как указано в **таблице 8**. Последовательности тяжелой и легкой цепей имеют сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ткани глаза человека (например, клетках сетчатки) или клетках печени и/или мышц. Сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в **таблице 2**, которые соответствуют белкам, секретлируемым типами клеток ткани глаза. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в клетках мышц или клетках печени, таких как те, которые перечислены в **таблицах 3** и **4 ниже**.

[0194] В дополнение к последовательностям переменных доменов тяжелой и легкой цепей и доменов C<sub>H1</sub> и C<sub>L</sub> трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C<sub>H1</sub> тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен к IL6R имеет домен Fab тяжелой цепи SEQ ID NO: 7 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержит всю или часть аминокислотной последовательности ERKSCVECPCPAPPVAG (SEQ ID NO: 163) или ERKSCVECPCPRA (SEQ ID NO: 164), как показано на **Фиг. 3А**. Эти шарнирные области могут кодироваться

последовательностями нуклеотидов на 3'-конце SEQ ID NO: 32 последовательностями, кодирующими шарнирную область, представленными в **таблице 6** (SEQ ID NO: 32). В еще одном варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полную (или по существу полную) тяжелую и легкую цепи антитела, включающие домен Fc на C-конце тяжелой цепи, например, имеющие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67 (**таблица 6**) или домен Fc IgG2, такой как SEQ ID NO: 62 или показанный на **Фиг. 6**, или их мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более рецепторами Fc и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

[0195] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6R, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 8. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6R, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 7. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 8, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 7. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6R содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на **Фиг. 3А**) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на **Фиг. 9А**. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6R

содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на **Фиг. 3А**) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на **Фиг. 9В**.

[0196] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует гипергликозилированный Fab сатрализумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 7 и 8, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L114N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. **Фиг. 9А** (тяжелая цепь) и **9В** (легкая цепь)).

[0197] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR сатрализумаба, которые подчеркнуты в последовательностях переменных доменов тяжелой и легкой цепей на **Фиг. 3А**, которые расположены между каркасными областями, как правило, каркасными областями человека, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области техники, для формирования переменного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL6R или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0198] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи части Fab сарилумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 9 и 10, соответственно, см. **таблицу 7** и **Фиг. 3В**). Нуклеотидные последовательности могут быть оптимизированы по кодонам для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, включать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 34 (кодирует часть Fab тяжелой цепи сарилумаба) и SEQ ID NO: 35 (кодирует часть Fab легкой цепи сарилумаба), как указано в **таблице 8**. Последовательности тяжелой и легкой цепей имеют сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ткани глаза человека (например, клетках сетчатки) или клетках печени и/или мышц. Сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в **таблице 2**, которые

соответствуют белкам, секретлируемым типами клеток ткани глаза. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в клетках мышц или клетках печени, таких как те, которые перечислены в **таблицах 3 и 4 ниже**.

[0199] В дополнение к последовательностям вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей и доменов C<sub>H1</sub> и C<sub>L</sub> трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена C<sub>H1</sub> тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен к IL6R имеет домен Fab тяжелой цепи SEQ ID NO: 9 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержит всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO:153), и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO:155), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO:156), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO:157), EPKSCDKTHLCPPCA (SEQ ID NO:158), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:159) или EPKSCDKTHLCPPCAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:160), как показано на **Фиг. 3В**. Эти шарнирные области могут кодироваться последовательностями нуклеотидов на 3'-конце SEQ ID NO: 34 последовательностями, кодирующими шарнирную область, представленными в **таблице 8** (SEQ ID NO: 34). В еще одном варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела, включающие домен Fc на С-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185 (**таблица 6**), или домен Fc IgG1, такой как SEQ ID NO: 61 или показанный на **Фиг. 6**, или их мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более рецепторами Fc и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

[0200] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6R, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 10. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6R, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 9. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует

антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности, указанной в SEQ ID NO: 10, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 9. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6R содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на **Фиг. 3В**) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на **Фиг. 9А**. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6R содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на **Фиг. 3В**) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на **Фиг. 9В**.

[0201] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует гипергликозилированный Fab сарилумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 9 и 10, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: M111N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. **Фиг. 9А** (тяжелая цепь) и **9В** (легкая цепь)).

[0202] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR сарилумаба, которые подчеркнуты в последовательностях переменных доменов тяжелой и легкой цепей на **Фиг. 3В**, которые расположены между каркасными областями, как правило, каркасными областями человека, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области техники, для формирования переменного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL6R или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0203] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи части Fab тоцилизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 21 и 22, соответственно, см. **таблицу 7** и **Фиг. 3H**). Нуклеотидные последовательности могут быть оптимизированы по кодонам для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, содержать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 183 (кодирует часть Fab тяжелой цепи тоцилизумаба) и SEQ ID NO: 184 (кодирует часть Fab легкой цепи тоцилизумаба), как указано в **таблице 8**. Последовательности тяжелой и легкой цепей имеют сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ткани глаза человека (например, клетках сетчатки) или клетках печени и/или мышц. Сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в **таблице 2**, которые соответствуют белкам, секретиремым типами клеток ткани глаза. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в клетках мышц или клетках печени, таких как те, которые перечислены в **таблицах 3** и **4** ниже.

[0204] В дополнение к последовательностям переменных доменов тяжелой и легкой цепей и доменов C<sub>H1</sub> и C<sub>L</sub> трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C<sub>H1</sub> тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен к IL6R имеет домен Fab тяжелой цепи SEQ ID NO: 21 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержит всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO:153), и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO:155), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO:156), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO:157), EPKSCDKTHLCPPCPA (SEQ ID NO:158), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:159) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:160), как показано на **Фиг. 3H**. Эти шарнирные области могут кодироваться нуклеотидными последовательностями на 3'-конце SEQ ID NO: 183 последовательностями, кодирующими шарнирную область, приведенными в **таблице 8** (SEQ ID NO: 183). В еще одном варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полную (или по существу полную) тяжелую и легкую цепи антитела, включающие домен Fc на C-конце тяжелой цепи,

например, имеющие аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72 (таблица 6) или домен Fc IgG1, такой как SEQ ID NO: 61 или показанный на Фиг. 6, или их мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более рецепторами Fc и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

[0205] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6R, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 22. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6R, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 22, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 21. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6R содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на Фиг. 3H) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9A. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6R содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на Фиг. 3H) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в легкой

цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9В.

[0206] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует гипергликозилированный Fab тоцилизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 21 и 22, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L115N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. Фиг. 9А (тяжелая цепь) и 9В (легкая цепь)).

[0207] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6R кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR тоцилизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях переменных доменов тяжелой и легкой цепей на Фиг. 3Н, которые расположены между каркасными областями, как правило, каркасными областями человека, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области техники, для формирования переменного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL6R или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0208] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи части Fab силтуксимаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11 и 12, соответственно, см. **таблицу 7** и **Фиг. 3С**). Нуклеотидные последовательности могут быть оптимизированы по кодонам для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, включать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 36 (кодирует часть Fab тяжелой цепи силтуксимаба) и SEQ ID NO: 37 (кодирует часть Fab легкой цепи силтуксимаба), как указано в **таблице 8**. Последовательности тяжелой и легкой цепей имеют сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ткани глаза человека (например, клетках сетчатки) или клетках печени и/или мышц. Сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в **таблице 2**, которые соответствуют белкам, секретиремым типами клеток ткани глаза. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в клетках мышц или клетках печени, таких как те, которые перечислены в **таблицах 3** и **4** ниже.

[0209] В дополнение к последовательностям переменных доменов тяжелой и

легкой цепей и доменов  $C_{H1}$  и  $C_L$  трансгены могут содержать на С-конце последовательности домена  $C_{H1}$  тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен к IL6, имеет домен Fab тяжелой цепи SEQ ID NO: 11 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после С-концевого валина (V), содержит всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO:153), и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO:155), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO:156), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO:157), EPKSCDKTHLCPPCA (SEQ ID NO:158), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:159) или EPKSCDKTHLCPPCAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:160), как показано на **Фиг. 3С**. Эти шарнирные области могут кодироваться последовательностями нуклеотидов на 3'-конце SEQ ID NO: 36 последовательностями, кодирующими шарнирную область, представленными в **таблице 8** (SEQ ID NO: 36). В еще одном варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела, включающие домен Fc на С-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68 (**таблица 6**), или домен Fc IgG1, такой как SEQ ID NO: 61 или как показано на **Фиг. 6**, или их мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более рецепторами Fc и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

[0210] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 12. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 11. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 12, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную

последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 11. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотных замен, вставок или делеций, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся за пределами CDR, при этом CDR подчеркнуты на Фиг. 3С) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9А. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на Фиг. 3С) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9В.

[0211] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует гипергликозилированный Fab силтуксимаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 11 и 12, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: S114N (тяжелая цепь), Q159N или Q159S (легкая цепь) и/или E194N (легкая цепь) (см. Фиг. 9А (тяжелая цепь) и 9В (легкая цепь)).

[0212] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR силтуксимаба, которые подчеркнуты в последовательностях переменных доменов тяжелой и легкой цепей на Фиг. 3С, которые расположены между каркасными областями, как правило, каркасными областями человека, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области техники, для формирования переменного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL6 или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0213] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи части Fab клазакизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 13 и 14, соответственно, см. **таблицу 7** и **Фиг. 3D**). Нуклеотидные

последовательности могут быть оптимизированы по кодонам для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, включать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 38 (кодирует часть Fab тяжелой цепи клазакизумаба) и SEQ ID NO: 39 (кодирующий часть Fab легкой цепи клазакизумаба), как указано в **таблице 8**. Последовательности тяжелой и легкой цепей имеют сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ткани глаза человека (например, клетках сетчатки) или клетках печени и/или мышц. Сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность MYRMQLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в **таблице 2**, которые соответствуют белкам, секретлируемым типами клеток ткани глаза. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в клетках мышц или клетках печени, таких как те, которые перечислены в **таблицах 3 и 4 ниже**.

[0214] В дополнение к последовательностям переменных доменов тяжелой и легкой цепей и доменов C<sub>H1</sub> и C<sub>L</sub> трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C<sub>H1</sub> тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен к IL6, имеет домен Fab тяжелой цепи SEQ ID NO: 13, с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержит всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO:153), и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO:155), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO:156), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO:157), EPKSCDKTHLCPCPA (SEQ ID NO:158), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:159) или EPKSCDKTHLCPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:160), как показано на **Фиг. 3D**. Эти шарнирные области могут кодироваться последовательностями нуклеотидов на 3'-конце SEQ ID NO: 38 последовательностями, кодирующими шарнирную область, представленными в **таблице 8** (SEQ ID NO: 38). В еще одном варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела, включающие домен Fc на C-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69 (**таблица 6**), или домен Fc IgG1, такой как SEQ ID NO: 61 или как показано на **Фиг. 6**, или их мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более рецепторами Fc и/или эффекторной функцией, как описано

в разделе 5.1.9 ниже.

[0215] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 14. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 13. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 14, и тяжелую цепь, содержащая аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 13. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотных замен, вставок или делеций, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся за пределами CDR, при этом CDR подчеркнуты на Фиг. 3D) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9A. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на Фиг. 3D) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9B.

[0216] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего

фрагмента к IL6 кодирует гипергликозилированный Fab клазакизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L115N (тяжелая цепь), Q163N или Q163S (легкая цепь) и/или E198N (легкая цепь) (см. Фиг. 9A (тяжелая цепь) и 9B (легкая цепь)).

[0217] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR клазакизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях переменных доменов тяжелой и легкой цепей на Фиг. 3D, которые расположены между каркасными областями, как правило, каркасными областями человека, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области техники, для формирования переменного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL6 или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0218] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи части Fab сирукумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO. 15 и 16, соответственно, см. **таблицу 7** и **Фиг. 3E**). Нуклеотидные последовательности могут быть оптимизированы по кодонам для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, включать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 40 (кодирует часть Fab тяжелой цепи сирукумаба) и SEQ ID NO: 41 (кодирующий часть Fab легкой цепи сирукумаба), как указано в **таблице 8**. Последовательности тяжелой и легкой цепей имеют сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ткани глаза человека (например, клетках сетчатки) или клетках печени и/или мышц. Сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность MYRMQLLLLIASLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в **таблице 2**, которые соответствуют белкам, секретиремым типами клеток ткани глаза. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в клетках мышц или клетках печени, таких как те, которые перечислены в **таблицах 3** и **4 ниже**.

[0219] В дополнение к последовательностям переменных доменов тяжелой и легкой цепей и доменов C<sub>H</sub>1 и C<sub>L</sub> трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C<sub>H</sub>1 тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен к IL6, имеет домен Fab тяжелой цепи SEQ ID NO: 15, с дополнительной последовательностью шарнирной области,

начинающейся после С-концевого валина (V), содержит всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO:153), и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO:155), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO:156), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO:157), EPKSCDKTHLCPPCA (SEQ ID NO:158), EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:159) или EPKSCDKTHLCPPCAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:160), как показано на **Фиг. 3Е**. Эти шарнирные области могут кодироваться последовательностями нуклеотидов на 3'-конце SEQ ID NO: 40 последовательностями, кодирующими шарнирную область, представленными в **таблице 8** (SEQ ID NO: 40). В еще одном варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела, включающие домен Fc на С-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70 (**таблица 6**) или домен Fc IgG1, такой как SEQ ID NO: 61 или показанный на **Фиг. 6**, или их мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более рецепторами Fc и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

[0220] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 16. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 15. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 16, и тяжелую цепь, содержащая аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 15. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID

NO: 15 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на Фиг. 3Е) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9А. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на Фиг. 3Е) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9В.

[0221] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует гипергликозилированный Fab сирукумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 15 и 16, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: T114N (тяжелая цепь), Q159N или Q159S (легкая цепь) и/или E194N (легкая цепь) (см. Фиг. 9А (тяжелая цепь) и 9В (легкая цепь)).

[0222] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR сирукумаба, которые подчеркнуты в последовательностях переменных доменов тяжелой и легкой цепей на Фиг. 3Е, которые расположены между каркасными областями, как правило, каркасными областями человека, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области техники, для формирования переменного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL6 или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0223] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи части Fab олокизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 17 и 18, соответственно, см. **таблицу 7** и **Фиг. 3F**). Нуклеотидные последовательности могут быть оптимизированы по кодонам для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, включать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 42 (кодирует часть Fab тяжелой цепи олокизумаба) и SEQ ID NO: 43 (кодирующий часть Fab легкой цепи олокизумаба), как указано в **таблице 8**.

Последовательности тяжелой и легкой цепей имеют сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ткани глаза человека (например, клетках сетчатки) или клетках печени и/или мышц. Сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в **таблице 2**, которые соответствуют белкам, секретируемым типами клеток ткани глаза. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в клетках мышц или клетках печени, таких как те, которые перечислены в **таблицах 3 и 4 ниже**.

[0224] В дополнение к последовательностям переменных доменов тяжелой и легкой цепей и доменов C<sub>H1</sub> и C<sub>L</sub> трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C<sub>H1</sub> тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен к IL6 содержит домен Fab тяжелой цепи SEQ ID NO: 17 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержит всю или часть аминокислотной последовательности ESKYGPPCPPCPAPEFLGG (SEQ ID NO:165), и в, частности, ESKYGPPCPPCPA (SEQ ID NO:166), ESKYGPPCPSCPA (SEQ ID NO:167), ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO:168), или ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL (SEQ ID NO:169), как показано на **Фиг. 4F**. Эти шарнирные области могут кодироваться последовательностями нуклеотидов на 3'-конце SEQ ID NO: 42 последовательностями, кодирующими шарнирную область, представленными в **таблице 8** (SEQ ID NO: 42). В еще одном варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела, включающие домен Fc на C-конце тяжелой цепи, например, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71 (**таблица 6**) или домен Fc IgG4, такой как SEQ ID NO: 63 или показанный на **Фиг. 6**, или их мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более рецепторами Fc и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

[0225] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%

идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 18. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 17. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 18, и тяжелую цепь, содержащая аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 17. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на Фиг. 3F) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в тяжелой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9A. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, причем замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на Фиг. 3F) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9B.

[0226] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует гипергликозилированный Fab олокизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 17 и 18, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: L115N (тяжелая цепь), Q160N или Q160S (легкая цепь) и/или E195N (легкая цепь) (см. Фиг. 9A (тяжелая цепь) и 9B (легкая цепь)).

[0227] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего

фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR олокизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях переменных доменов тяжелой и легкой цепей на Фиг. 3F, которые расположены между каркасными областями, как правило, каркасными областями человека, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области техники, для формирования переменного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL6 или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0228] В некоторых вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи части Fab герилизумаба (имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 19 и 20, соответственно, см. **таблицу 7** и Фиг. 2G). Нуклеотидные последовательности могут быть оптимизированы по кодонам для экспрессии в клетках человека. Нуклеотидные последовательности могут, например, включать нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 44 (кодирует часть Fab тяжелой цепи герилизумаба) и SEQ ID NO: 45 (кодирующий часть Fab легкой цепи герилизумаба), как указано в **таблице 8**. Последовательности тяжелой и легкой цепей имеют сигнальную или лидерную последовательность на N-конце, подходящую для экспрессии и секреции в клетках человека, в частности, в клетках ткани глаза человека (например, клетках сетчатки) или клетках печени и/или мышц. Сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность MYRMQLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Альтернативно, сигнальная последовательность может иметь аминокислотную последовательность, выбранную из любой из сигнальных последовательностей, представленных в **таблице 2**, которые соответствуют белкам, секретиремым типами клеток ткани глаза. Альтернативно, сигнальная последовательность может подходить для экспрессии в клетках мышц или клетках печени, таких как те, которые перечислены в **таблицах 3 и 4 ниже**.

[0229] В дополнение к последовательностям переменных доменов тяжелой и легкой цепей и доменов C<sub>H1</sub> и C<sub>L</sub> трансгены могут содержать на C-конце последовательности домена C<sub>H1</sub> тяжелой цепи всю или часть шарнирной области. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен к IL6, имеет домен Fab тяжелой цепи SEQ ID NO: 19 с дополнительной последовательностью шарнирной области, начинающейся после C-концевого валина (V), содержит всю или часть аминокислотной последовательности EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG (SEQ ID NO:153), и, в частности, EPKSCDKTHL (SEQ ID NO: 160), EPKSCDKTHT (SEQ ID NO:156), EPKSCDKTHTCPPCPA (SEQ ID NO:157), EPKSCDKTHLCPCPA (SEQ ID NO:158),

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:159) или EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL (SEQ ID NO:160), как показано на **Фиг. 3G**. Эти шарнирные области могут кодироваться последовательностями нуклеотидов на 3'-конце SEQ ID NO: 44 последовательностями, кодирующими шарнирную область, представленными в **таблице 8** (SEQ ID NO: 44). В еще одном варианте осуществления трансгены содержат аминокислотные последовательности, кодирующие полноразмерные (или по существу полноразмерные) тяжелые и легкие цепи антитела, включающие домен Fc на C-конце тяжелой цепи, например, имеющий домен Fc IgG1, такой как SEQ ID NO: 72 (**таблица 6**) или 61 (изображен на **Фиг. 6**), или их мутант, или вариант. Домен Fc может быть сконструирован для измененного связывания с одним или более рецепторами Fc и/или эффекторной функцией, как описано в разделе 5.1.9 ниже.

[0230] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 20. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент к IL6, содержащий тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 19. В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент, содержащий легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 20, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 19. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, а замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, в тех областях, которые находятся за пределами CDR, причем CDR подчеркнуты на **Фиг. 3G**) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в тяжелой цепи одного или более других

терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент к IL6 содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислотными заменами, вставками или делециями, а замены, вставки или делеции производятся, например, в каркасных областях (например, в тех областях за пределами CDR, которые подчеркнуты на Фиг. 3G) или представляют собой замены аминокислотой, присутствующей в этом положении в легкой цепи одного или более других терапевтических антител, например, как идентифицировано при помощи выравнивания на Фиг. 9B.

[0231] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует гипергликозилированный Fab герилизумаба, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь SEQ ID NO: 19 и 20, соответственно, с одной или более из следующих мутаций: M117N (тяжелая цепь) и/или Q198N (легкая цепь) (см. Фиг. 9A (тяжелая цепь) и 9B (легкая цепь)).

[0232] В определенных вариантах осуществления трансген антигенсвязывающего фрагмента к IL6 кодирует антигенсвязывающий фрагмент и содержит нуклеотидные последовательности, кодирующие шесть CDR герилизумаба, которые подчеркнуты в последовательностях переменных доменов тяжелой и легкой цепей на Фиг. 3G, которые расположены между каркасными областями, как правило, каркасными областями человека, и связаны с константными доменами в зависимости от формы антигенсвязывающей молекулы, как известно в данной области техники, для формирования переменного домена тяжелой и/или легкой цепи антитела к IL6 или его антигенсвязывающего фрагмента.

### *Способы генной терапии*

[0233] Предложены способы лечения людей от неинфекционного увеита путем введения вирусного вектора, содержащего трансген, кодирующий антитело к IL6R или к IL6 или его антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может представлять собой сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилизумаб, и представляет собой, например, полноразмерный, по существу полноразмерный его фрагмент Fab или другой его антигенсвязывающий фрагмент.

[0234] В вариантах осуществления у пациента диагностирован неинфекционный увеит и/или имеются симптомы, связанные с ним. Рекомбинантные векторы, используемые для доставки трансгена, описаны в разделе 5.1, а иллюстративные трансгены представлены выше. Такие векторы должны обладать тропизмом к клеткам ткани глаза человека и могут включать нереплицирующиеся rAAV, особенно те, которые несут капсид AAV8, AAV3B или AAVrh73. Рекомбинантные векторы, такие как показанные на Фиг. 3A-3H, можно вводить

любым способом так, чтобы рекомбинантный вектор проникал в одну или более клеток ткани глаза, например, путем введения рекомбинантного вектора в глаз, например, путем субретинального, интравитреального, интракамерального или супрахориоидального введения, или в кровоток, например, путем внутривенного или внутримышечного введения. Подробную информацию о способах лечения смотри ниже.

Субъекты, которым вводят такую генную терапию, могут быть теми, кто отвечает на терапию анти-IL6R или анти-IL6. В определенных вариантах осуществления способы охватывают лечение пациентов, у которых было диагностировано одно или более нарушений зрения или у которых есть один или более симптомов, связанных с ними, и идентифицированных как отвечающих на лечение антителами к IL6R или к IL6, или считающихся хорошим кандидатом для терапии антителами к IL6 или к IL6. В конкретных вариантах осуществления пациенты ранее получали лечение сатрализумабом, сарилумабом, тоцилизумабом, силтуксимабом, клазакизумабом, сирукумабом, олокизумабом или герилизумабом, и было обнаружено, что они отвечают на сатрализумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, или герилизумаб. В других вариантах осуществления пациентов ранее лечили антителом к IL6R или к IL6. Для определения чувствительности продукт трансгена антитела к IL6R или к IL6 или антигенсвязывающего фрагмента (например, продуцируемый в культуре клеток, биореакторах и т.д.) можно вводить непосредственно субъекту.

#### ***Человеческие посттрансляционно модифицированные антитела***

[0235] Продукция чПМ мкАт или чПМ Fab к IL6R или к IL6 должно привести к получению молекулы «с улучшенными характеристиками» для лечения ангионевротического отека с помощью генной терапии, например, путем введения вирусного вектора или другой конструкции для экспрессии ДНК, кодирующей чПМ Fab к IL6R или к IL6, субретинально, интравитреально, интракамерально, супрахориоидально или внутривенно субъектам-людям (пациентам), у которых диагностирован или имеется один или более симптомов неинфекционного увеита, для создания постоянного депо в глазу (и/или в печени и/или в мышцах), который непрерывно поставляет полностью человеческий посттрансляционно модифицированный, например, человеческий гликозилированный, сульфатированный продукт трансгена, продуцируемый трансдуцированными клетками ткани глаза.

[0236] В конкретных вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6R или его антигенсвязывающий фрагмент имеют тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями частей Fab тяжелой и легкой цепей сатрализумаба, как показано на Фиг. 3А (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по

аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N) и сайтами O-сульфатирования по тирозину (Y), как указано в легенде) имеет гликозилирование, в частности 2,6-сиалирование по одному или более аминокислотным положениям N77, N161, N194 и/или N203 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 7) или Q100, N158, и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 8). Альтернативно или в дополнение к этому, чПМ мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей сатрализумаба имеют группу сульфатирования в Y94, Y95 и/или Y200 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 7) и/или Y49, Y50, Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 8). В других вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6R или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит какие-либо детектируемые фрагменты NeuGc и/или не содержит какие-либо детектируемые фрагменты альфа-Gal. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное мкАт с областью Fc.

[0237] В конкретных вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6R или его антигенсвязывающий фрагмент имеют тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями частей Fab тяжелой и легкой цепей сарилумаба, как показано на Фиг. 3В (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N) и сайтами O-сульфатирования по тирозину (Y), как указано в легенде) имеет гликозилирование, в частности 2,6-сиалирование по одному или более аминокислотным положениям N54, Q108, и/или N158 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 9) или Q100, N158, и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 10). Альтернативно или в дополнение к этому, чПМ мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей сарилумаба имеют группу сульфатирования в Y32, Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 9) и/или Y86, Y87 и/или Y192 легкой цепи (SEQ ID NO: 10). В других вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6R или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит какие-либо детектируемые фрагменты NeuGc и/или не содержит какие-либо детектируемые фрагменты альфа-Gal. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное мкАт с областью Fc.

[0238] В конкретных вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6R или его антигенсвязывающий фрагмент имеют тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями частей Fab тяжелой и легкой цепей тоцилизумаба, как показано на Фиг. 3Н (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N) и сайтами O-сульфатирования по тирозину (Y), как указано в легенде) имеет гликозилирование, в

частности 2,6-сиалирование по одному или более аминокислотным положениям N61, N77, и/или N161 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 21) или Q100, N158, и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 22). Альтернативно или в дополнение к этому, чПМ мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями варьируемых доменов тяжелой и легкой цепей сатрализумаба имеют группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 21) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 22). В других вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6R или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит какие-либо детектируемые фрагменты NeuGc и/или не содержит какие-либо детектируемые фрагменты альфа-Gal. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное мкАт с областью Fc.

[0239] В конкретных вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6 или его антигенсвязывающий фрагмент имеют тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями частей Fab тяжелой и легкой цепей силтуксимаба, как показано на Фиг. 3C (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N) и сайтами O-сульфатирования по тирозину (Y), как указано в легенде) имеет гликозилирование, в частности 2,6-сиалирование по одному или более аминокислотным положениям Q111 и/или N161 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 11) или N60, N157, и/или N209 легкой цепи (SEQ ID NO: 12). Альтернативно или в дополнение к этому, чПМ мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями варьируемых доменов тяжелой и легкой цепей силтуксимаба имеют группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 11) и/или Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 12). В других вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит какие-либо детектируемые фрагменты NeuGc и/или не содержит какие-либо детектируемые фрагменты альфа-Gal. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное мкАт с областью Fc.

[0240] В конкретных вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6 или его антигенсвязывающий фрагмент имеют тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями частей Fab тяжелой и легкой цепей клазакизумаба, как показано на Фиг. 3D (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N) и сайтами O-сульфатирования по тирозину (Y), как указано в легенде) имеет гликозилирование, в частности 2,6-сиалирование по одному или более аминокислотным положениям N76, Q112, и/или N162 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 13) или N30, N161, и/или N213 легкой цепи (SEQ ID NO: 14). Альтернативно или в дополнение к этому, чПМ мкАт или его антигенсвязывающий

фрагмент с последовательностями переменных доменов тяжелой и легкой цепей клазакизумаба имеют группу сульфатирования в Y93 и/или Y94 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 13) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 14). В других вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит какие-либо детектируемые фрагменты NeuGc и/или не содержит какие-либо детектируемые фрагменты альфа-Gal. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное мкАт с областью Fc.

[0241] В конкретных вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6 или его антигенсвязывающий фрагмент имеют тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями частей Fab тяжелой и легкой цепей сирукумаба, как показано на Фиг. 3E (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N) и сайтами O-сульфатирования по тирозину (Y), как указано в легенде) имеет гликозилирование, в частности 2,6-сиалирование по одному или более аминокислотным положениям Q111 и/или N161 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 15) или N157 и/или N209 легкой цепи (SEQ ID NO: 16). Альтернативно или в дополнение к этому, чПМ мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями переменных доменов тяжелой и легкой цепей сирукумаба имеют группу сульфатирования в Y94 и/или Y95 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 15) и/или Y85 и/или Y86 легкой цепи (SEQ ID NO: 16). В других вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит какие-либо детектируемые фрагменты NeuGc и/или не содержит какие-либо детектируемые фрагменты альфа-Gal. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное мкАт с областью Fc.

[0242] В конкретных вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6 или его антигенсвязывающий фрагмент имеют тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями частей Fab тяжелой и легкой цепей олокизумаба, как показано на Фиг. 3F (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N) и сайтами O-сульфатирования по тирозину (Y), как указано в легенде) имеет гликозилирование, в частности 2,6-сиалирование по одному или более аминокислотным положениям N79, Q112, N162 и/или N204 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 17) или Q100, N158 и/или N210 легкой цепи (SEQ ID NO: 18). Альтернативно или в дополнение к этому, чПМ мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями переменных доменов тяжелой и легкой цепей олокизумаба имеют группу сульфатирования в Y96 и/или Y97 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 17) и/или Y86 и/или Y87 легкой цепи (SEQ ID NO: 18). В других вариантах

осуществления чПМ мкАт к IL6 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит какие-либо детектируемые фрагменты NeuGc и/или не содержит какие-либо детектируемые фрагменты альфа-Gal. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное мкАт с областью Fc.

[0243] В конкретных вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6 или его антигенсвязывающий фрагмент имеют тяжелую и легкую цепи с аминокислотными последовательностями частей Fab тяжелой и легкой цепей герилизумаба, как показано на Фиг. 3G (с сайтами гликозилирования по глутамину (Q); сайтами гликозилирования по аспарагину (N), неконсенсусными сайтами гликозилирования по аспарагину (N) и сайтами O-сульфатирования по тирозину (Y), как указано в легенде) имеет гликозилирование, в частности 2,6-сиалирование по одному или более аминокислотным положениям N78, Q114, N164 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 19) или N71 и/или N174 легкой цепи (SEQ ID NO: 20). Альтернативно или в дополнение к этому, чПМ мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент с последовательностями переменных доменов тяжелой и легкой цепей герилизумаба имеют группу сульфатирования в Y95 и/или Y96 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 19) и/или Y88 и/или Y89 легкой цепи (SEQ ID NO: 20). В других вариантах осуществления чПМ мкАт к IL6 или его антигенсвязывающий фрагмент не содержит какие-либо детектируемые фрагменты NeuGc и/или не содержит какие-либо детектируемые фрагменты альфа-Gal. В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт представляет собой полноразмерное или по существу полноразмерное мкАт с областью Fc.

[0244] В определенных вариантах осуществления чПМ мкАт или Fab являются терапевтически эффективными и по меньшей мере на 0,5%, 1% или 2% гликозилированы и/или сульфатированы и могут быть по меньшей мере на 5%, 10% или даже 50% или 100% гликозилированными и/или сульфатированными. Целью генной терапии, представленной в данном документе, является замедление или остановка прогрессирования или облегчение одного или более симптомов неинфекционного увеита. Эффективность можно контролировать путем измерения уменьшения боли, покраснения и/или светобоязни и/или улучшения зрения по сравнению с исходным уровнем.

[0245] Комбинации доставки чПМ мкАт к IL6R или к IL6 или их антигенсвязывающего фрагмента в одну или более тканей глаза в сочетании с доставкой других доступных средств для лечения охватываются способами, представленными в данном документе. Дополнительные средства для лечения можно вводить до, одновременно, или после генной терапии. Доступные средства для лечения субъекта с неинфекционным увеитом, которые можно комбинировать с генной терапией, представленной в настоящем документе, включают, помимо прочего, азатиоприн,

метотрексат, микофенолятмофетил, циклоспорин, циклофосфамид, кортикостероиды (местные и/или системные) и другие, и введение с анти-IL6R или анти-IL6, включая, помимо прочего, сарилумаб, сатрализумаб, тоцилизумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб или герилизумаба.

### **5.6. Мониторинг эффективности**

[0246] Композиции и способы, описанные в данном документе, могут быть оценены на эффективность с использованием любого способа оценки эффективности при лечении, предотвращении или облегчении НУ. Оценку можно проводить на животных моделях или с участием людей. Эффективность при дефиците зрения может быть измерена по остроте зрения с максимальной коррекцией (BCVA), например, путем оценки увеличения количества букв или строк, где эффективность может быть оценена как у увеличение более или равное 2 строкам ETDRS или увеличение в logMAR, по снижению воспалительной активности передней и задней камеры по классификации SUN и/или по снижению степени помутнения стекловидного тела. Физические изменения глаза могут быть измерены с помощью оптической когерентной томографии с использованием методов, известных в данной области техники.

[0247] Композиции и способы, описанные в данном документе, могут быть оценены на эффективность с использованием любого способа оценки эффективности при лечении, предотвращении или облегчении НУ. Оценку можно проводить на животных моделях или с участием людей. Эффективность при дефиците зрения может быть измерена по остроте зрения с максимальной коррекцией (BCVA), например, путем оценки увеличения количества букв или строк, где эффективность может быть оценена как у увеличение более или равное 2 строкам ETDRS или увеличение в logMAR, по снижению воспалительной активности передней и задней камеры по классификации SUN и/или по снижению степени помутнения стекловидного тела. Физические изменения глаза могут быть измерены с помощью оптической когерентной томографии с использованием методов, известных в данной области техники. Эффективность можно дополнительно контролировать путем определения частоты обострений и/или рецидивов, оценки клеток передней камеры, клеток стекловидного тела и степени помутнения стекловидного тела (например, степень  $\leq 0,5+$ ) и/или количества активных поражений сетчатки или хориоидеи (воспалительных) (например, см. Kim J.S. et al, *Int Ophthalmol Clin.* 2015 Summer; 55(3): 79–110 или Rosenbaum J.T. et al *Volume 49, Issue 3, December 2019, Pages 438-445*; которые полностью включены в данный документ посредством ссылки).

[0248] Конечные точки могут включать, помимо прочего, среднее изменение степени помутнения стекловидного тела в исследуемом глазу по сравнению с исходным

уровнем до 12, 16, 20, 24 или 28 недель или на момент восстановления, если ранее, доля пациентов, ответивших на лечение, без рецидива активного промежуточного, заднего или панuveита в исследуемом глазу через 12, 16, 20, 24 или 28 недель, среднее изменение остроты зрения с максимальной коррекцией от исходного уровня до 12, 16, 20, 24 или 28 недель, изменение от исходного уровня качества жизни/результатов лечения по оценке пациента, среднее изменение степени помутнения стекловидного тела и оценку количества иммунных клеток в передней камере от исходного уровня до 12, 16, 20, 24 или 28 недель или изменение оценки терапии иммунодепрессантами от исходного уровня до 12, 16, 20, 24 или 28 недель.

## **6 ПРИМЕРЫ**

### **6.1 ПРИМЕР 1: Вектор на основе кДНК Fab адалимумаба**

[0249] Сконструирован вектор на основе кДНК Fab адалимумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие часть Fab последовательностей тяжелой и легкой цепей адалимумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая часть Fab тяжелой и легкой цепи, представляет собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно. Альтернативно, нуклеотидная последовательность репрезентативных касет трансгенов Fab адалимумаба представлена в качестве примера нуклеотидной последовательности SEQ ID NO. 49-51 или 222-225. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяют элементами IRES или сайтами расщепления 2A (см. таблицу 4, в частности, SEQ ID NO: 142 или 144) для создания бицистронного вектора. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CAG, mU1a, EF1a, CB7, промотор CB или CBlong, тканеспецифический промотор, такой как специфический к ткани глаза промотор, в частности промотор GRK1 (SEQ ID NO:77) или тандемный промотор BEST1/GRK1 (SEQ ID NO: 275), или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

### **6.2. ПРИМЕР 2: Вектор на основе кДНК Fab инфликсимаба**

[0250] Сконструирован вектор на основе кДНК Fab инфликсимаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие часть Fab последовательностей тяжелой и легкой цепей инфликсимаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 3 и 4, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая часть Fab тяжелой и легкой цепи, может быть нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO. 28 и 29, соответственно. Трансген также

содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяют элементами IRES или сайтами расщепления 2A (см. таблицу 4, в частности, SEQ ID NO: 142 или 144) для создания бицистронного вектора. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CAG, mU1a, EF1a, CB7, промотор CB или CBlong, тканеспецифический промотор, такой как специфический к ткани глаза промотор, в частности промотор GRK1 (SEQ ID NO:77) или тандемный промотор BEST1/GRK1 (SEQ ID NO: 275), или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

### **6.3. ПРИМЕР 3: Вектор на основе кДНК Fab голиумаба**

[0251] Сконструирован вектор на основе кДНК Fab голиумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие часть Fab последовательностей тяжелой и легкой цепей голиумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 5 и 6, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая часть Fab тяжелой и легкой цепи, может быть нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO. 30 и 31, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяют элементами IRES или сайтами расщепления 2A (см. таблицу 4, в частности, SEQ ID NO: 142 или 144) для создания бицистронного вектора. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CAG, mU1a, EF1a, CB7, промотор CB или CBlong, тканеспецифический промотор, такой как специфический к ткани глаза промотор, в частности промотор GRK1 (SEQ ID NO:77) или тандемный промотор BEST1/GRK1 (SEQ ID NO: 275), или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

### **6.4. ПРИМЕР 4: Вектор на основе кДНК Fab сатрализумаба**

[0252] Сконструирован вектор на основе кДНК Fab сатрализумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие часть Fab последовательностей тяжелой и легкой цепей сатрализумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 7 и 8, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая часть Fab тяжелой и легкой цепи, может быть нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO. 32 и 33, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяют элементами

IRES или сайтами расщепления 2A (см. таблицу 4, в частности, SEQ ID NO: 142 или 144) для создания бицистронного вектора. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CAG, mU1a, EF1a, CB7, промотор CB или CBlong, тканеспецифический промотор, такой как специфический к ткани глаза промотор, в частности промотор GRK1 (SEQ ID NO:77) или тандемный промотор BEST1/GRK1 (SEQ ID NO: 275), или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

#### **6.5. ПРИМЕР 5: Вектор на основе кДНК Fab сарилумаба**

[0253] Сконструирован вектор на основе кДНК Fab сарилумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие часть Fab последовательностей тяжелой и легкой цепей голимумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 9 и 10, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая часть Fab тяжелой и легкой цепи, может быть нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO. 34 и 35, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяют элементами IRES или сайтами расщепления 2A (см. таблицу 4, в частности, SEQ ID NO: 142 или 144) для создания бицистронного вектора. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CAG, mU1a, EF1a, CB7, промотор CB или CBlong, такой как специфический к ткани глаза промотор, в частности промотор GRK1 (SEQ ID NO:77), или тандемный промотор BEST1/GRK1 (SEQ ID NO: 275), или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

#### **6.6. ПРИМЕР 6: Вектор на основе кДНК Fab силтуксимаба**

[0254] Сконструирован вектор на основе кДНК Fab силтуксимаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие часть Fab последовательностей тяжелой и легкой цепей силтуксимаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 11 и 12, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая часть Fab тяжелой и легкой цепи, может быть нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO. 36 и 37, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяют элементами IRES или сайтами расщепления 2A (см. таблицу 4, в частности, SEQ ID NO: 142 или 144) для создания бицистронного вектора. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CAG, mU1a, EF1a, CB7, промотор CB или CBlong, тканеспецифический

промотор, такой как специфический к ткани глаза промотор, в частности промотор GRK1 (SEQ ID NO:77) или тандемный промотор BEST1/GRK1 (SEQ ID NO: 275), или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

#### **6.6. ПРИМЕР 6: Вектор на основе кДНК Fab клазакизумаба**

[0255] Сконструирован вектор на основе кДНК Fab клазакизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие часть Fab последовательностей тяжелой и легкой цепей клазакизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 13 и 14, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая часть Fab тяжелой и легкой цепи, может быть нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO. 38 и 39, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяют элементами IRES или сайтами расщепления 2A (см. таблицу 4, в частности, SEQ ID NO: 142 или 144) для создания бицистронного вектора. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CAG, mU1a, EF1a, CB7, промотор CB или CBlong, тканеспецифический промотор, такой как специфический к ткани глаза промотор, в частности промотор GRK1 (SEQ ID NO:77) или тандемный промотор BEST1/GRK1 (SEQ ID NO: 275), или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

#### **6.7. ПРИМЕР 7: Вектор на основе кДНК Fab сирукумаба**

[0256] Сконструирован вектор на основе кДНК Fab сирукумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие часть Fab последовательностей тяжелой и легкой цепей сирукумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 15 и 16, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая часть Fab тяжелой и легкой цепи, может быть нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO. 40 и 41, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяют элементами IRES или сайтами расщепления 2A (см. таблицу 4, в частности, SEQ ID NO: 142 или 144) для создания бицистронного вектора. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CAG, mU1a, EF1a, CB7, промотор CB или CBlong, тканеспецифический промотор, такой как специфический к ткани глаза промотор, в частности промотор GRK1 (SEQ ID NO:77) или тандемный промотор BEST1/GRK1 (SEQ ID NO: 275), или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

### **6.8. ПРИМЕР 8: Вектор на основе κДНК Fab олокизумаба**

[0257] Сконструирован вектор на основе κДНК Fab олокизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие часть Fab последовательностей тяжелой и легкой цепей олокизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 17 и 18, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая часть Fab тяжелой и легкой цепи, может быть нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO. 42 и 43, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяют элементами IRES или сайтами расщепления 2A (см. таблицу 4, в частности, SEQ ID NO: 142 или 144) для создания бицистронного вектора. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CAG, mU1a, EF1a, CB7, промотор CB или CBlong, тканеспецифический промотор, такой как специфический к ткани глаза промотор, в частности промотор GRK1 (SEQ ID NO:77) или тандемный промотор BEST1/GRK1 (SEQ ID NO: 275), или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

### **6.9. ПРИМЕР 9: Вектор на основе κДНК Fab герилизумаба**

[0258] Сконструирован вектор на основе κДНК Fab герилизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие часть Fab последовательностей тяжелой и легкой цепей герилизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 19 и 20, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая часть Fab тяжелой и легкой цепи, может быть нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO. 44 и 45, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяют элементами IRES или сайтами расщепления 2A (см. таблицу 4, в частности, SEQ ID NO: 142 или 144) для создания бицистронного вектора. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CAG, mU1a, EF1a, CB7, промотор CB или CBlong, тканеспецифический промотор, такой как специфический к ткани глаза промотор, в частности промотор GRK1 (SEQ ID NO:77) или тандемный промотор BEST1/GRK1 (SEQ ID NO: 275), или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

### **6.10. ПРИМЕР 10: Вектор на основе κДНК Fab тоцилизумаба**

[0259] Сконструирован вектор на основе κДНК Fab тоцилизумаба, содержащий трансген, содержащий нуклеотидные последовательности, кодирующие часть Fab

последовательностей тяжелой и легкой цепей тоцилизумаба (аминокислотные последовательности представляют собой SEQ ID NO: 21 и 22, соответственно). Нуклеотидная последовательность, кодирующая часть Fab тяжелой и легкой цепи, может быть нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 183 и 184, соответственно. Трансген также содержит нуклеотидные последовательности, которые кодируют сигнальный пептид, например, MYRMQLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85). Нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь и тяжелую цепь, разделяют элементами IRES или сайтами расщепления 2A (см. таблицу 4, в частности, SEQ ID NO: 142 или 144) для создания бицистронного вектора. Вектор дополнительно включает конститутивный промотор, такой как CAG, mU1a, EF1a, CB7, промотор CB или CBlong, тканеспецифический промотор, такой как специфический к ткани глаза промотор, в частности промотор GRK1 (SEQ ID NO: 77) или тандемный промотор BEST1/GRK1 (SEQ ID NO: 275), или индуцируемый промотор, такой как индуцируемый гипоксией промотор.

#### **6.11 ПРИМЕР 11: Векторизованные кассеты IgG и Fab адалимумаба: дизайн и характеристика**

[0260] Была сконструирована кассета трансгена AAV (SEQ ID NO: 46 и 47), которая обеспечивает повсеместную экспрессию векторизованного IgG адалимумаба (SEQ ID NO: 48). Последовательность, кодирующая белок, состоит из тяжелой и легкой цепей адалимумаба, разделенных сайтом расщепления фурином (SEQ ID NO: 146), линкером Gly-Ser-Gly (GSG) (SEQ ID NO: 148) и самопроцессирующейся последовательностью пептида T2A (SEQ ID NO: 149). Конкретная конфигурация последовательности дает экспрессию отдельных пептидов тяжелой и легкой цепей. Вся рамка считывания кодон-оптимизирована и обеднена в отношении CpG-динуклеотидов. Промотор CAG (SEQ ID NO: 74) управляет экспрессией. Альтернативно, была сконструирована кассета трансгена AAV (SEQ ID NO: 52 и 53), которая управляет тканеспецифической экспрессией векторизованного адалимумаба IgG (SEQ ID NO: 48), управляемой промотором GRK1 (SEQ ID NO: 77). Кроме того, предусмотрены конструкции, в которых промотор CB (SEQ ID NO: 273) или тандемный промотор Best1/GRK (SEQ ID NO: 275) управляет экспрессией, и, необязательно, конструкция включает интрон VH4 (SEQ ID NO: 80), включая конструкции pAAV.CB.VH4.adalimumab (SEQ ID NO: 276 и 277) или pAAV.CBlong.VH4.adalimumab, pAAV.Best1.GRK1.VH4.adalimumab. Аналогичным образом была разработана дополнительная кассета (SEQ ID NO: 49 и 50), которая управляет экспрессией Fab, содержащего переменные области адалимумаба (SEQ ID NO: 51). Конструкции показаны на **Фиг. 1А**, и **Фиг. 1В**, а последовательности представлены в **таблице 8**.

[0261] Плазмидную экспрессию адалимумаба IgG и фрагмента Fab из

pAAV.CAG.adalimumab.IgG (SEQ ID NO: 46) или pAAV.CAG.adalimumab.Fab (SEQ ID NO: 49) в супернатанте трансфицированных клеток 293Т характеризовали с помощью вестерн-блоттинга и ИФА с рекомбинантным человеческим TNF $\alpha$ . Вестерн-блоттинг подтвердил экспрессию тяжелой и легкой цепей полноразмерного адалимумаба и легкой цепи фрагмента Fab с использованием домена Fc козы против иммуноглобулина человека (1:3000) для обнаружения полной тяжелой цепи и легкой каппа-цепи козы против иммуноглобулина человека (1:3000) для обнаружения легкой цепи по сравнению с контрольным антителом. Оба вектора продуцировали адалимумаб, который связывал TNF $\alpha$  человека в анализе на основе ИФА. Кроме того, для получения векторов на основе рекомбинантного AAV8 использовали плазмиды pAAV.CAG.adalimumab.IgG (SEQ ID NO: 46) и pAAV.CAG.adalimumab.Fab (SEQ ID NO: 49). Экспрессия и активность связывания TNF $\alpha$  адалимумаба, полученного из этих рекомбинантных AAV8, были подтверждены с помощью вестерн-блоттинга и ИФА при множественности заражения (MOI) 1E4 и 1E5 с помощью вышеупомянутых анализов.

#### **6.12 ПРИМЕР 12: Самокомплементарные кассеты трансонов Fab адалимумаба: дизайн и характеристика**

[0262] Были созданы две самокомплементарные кассеты трансогена AAV (scAAV), кодирующие векторизованный Fab адалимумаба (SEQ ID NO: 222, 223, 224 и 225). Универсальные коровые промоторы mU1a (SEQ ID NO: 75) или EF-1 $\alpha$  (SEQ ID NO: 76) управляют трансогенами. Эти плазмиды сравнивали по экспрессии Fab посредством трансфекции в клетки 293Т. Вектор, управляемый mU1a, показал более высокое значение поглощения, что свидетельствует о более высокой концентрации Fab в супернатанте клеток.

#### **6.13 ПРИМЕР 13: Связывание TNF $\alpha$ между модельными видами с векторизованными IgG и Fab адалимумаба**

[0263] Векторизованные кандидаты адалимумаба оценивали на связывание с TNF $\alpha$ , выделенным из модельных видов, включая человека, мышь и крысу. Векторизованные антитела экспрессировали и секретировали в клеточный супернатант после трансфекции *cis*-плазмидой в клетки 293Т. Супернатант клеток тестировали в ИФА, где планшеты покрывали рекомбинантным TNF $\alpha$ , полученным из человека, мыши и крысы. IgG адалимумаб эффективно связывает TNF $\alpha$  человека и мыши. Fab демонстрирует профиль связывания с человеческим TNF $\alpha$ , аналогичный профилю связывания IgG. Однако Fab демонстрирует слабое связывание с мышинным TNF $\alpha$  по сравнению с IgG адалимумабом. Как IgG, так и Fab демонстрируют пониженное связывание с крысиным TNF $\alpha$  по сравнению с мышинным или человеческим.

#### **6.14 ПРИМЕР 14: Исследование in vivo 1**

[0264] В этом исследовании полноразмерный адалимумаб AAV8.CAG.adalimumab.IgG оценивали на опосредованную AAV экспрессию антител *in vivo* в тканях глаза мыши при местном введении (субретинально, СР). AAV8.GFP и носитель служили в качестве контроля.

**Таблица 9.** Схема исследования

Группа	Вектор	ПВ	Ввод. Объем (мкл)	Доза (гв/глаз)	N (животные)
1	AAV8.CAG.Ada limumab.IgG	СР	1	1,00E+07	3
2		СР	1	1,00E+08	3
3		СР	1	1,00E+09	3
4	AAV8.GFP	СР	1	1,00E+08	3
5	Носитель	СР	1	-	3

[0265] Для этого исследования использовали молодых взрослых мышей C57BL/6 (возраст 8-10 недель). Векторы AAV8.CAG.adalimumab.IgG и AAV8.CAG.GFP доставляли в глаза мышей путем субретинальной (СР) инъекции в различных дозах ( $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  и  $1 \times 10^9$  гв/глаз) в 1 мкл буфера для состава (**таблица 9**). Визуализацию глазного дна и ОКТ проводили на 6-й и 16-й дни после субретинальной инъекции. Образцы глаз собирали через 21 день после введения. Уровни экспрессии белка антитела в тканях глаза (ПЭС, сетчатка и передний сегмент) количественно определяли с помощью ИФА (**Фиг. 7**). Специфичность клеточного типа определяли при помощи иммунофлуоресцентного окрашивания различными маркерами клеток сетчатки. Структурные изменения сетчатки и выживаемость нейронов оценивали с помощью гистологии и иммунофлуоресцентного окрашивания через 6 и 16 дней после введения.

[0266] Субретинальная инъекция различных доз ( $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  и  $1 \times 10^9$  гв/глаз) векторизованного полноразмерного адалимумаба (AAV8.CAG.Adalimumab.IgG) приводила к дозозависимой экспрессии трансгена (**Фиг. 7 и 8**) и воспалению сетчатки (**таблица 10**). Было обнаружено, что при каждой дозе уровни экспрессии были самыми высокими в сетчатке, за которыми следовали ПЭС и передний сегмент. Воспаление сетчатки было обнаружено у 5 из 6 мышей, которым вводили дозу  $1 \times 10^9$  гв/глаз через 16 дней после введения. У мышей, получавших более низкие дозы, не было обнаружено признаков воспаления. Воспаление/токсичность сетчатки может быть причиной более низких уровней экспрессии, обнаруженных у мышей, получавших  $1 \times 10^9$  гв/глаз (120,9 нг адалимумаба/г белка или концентрация адалимумаба 202,7 нг/мл в сетчатке) по сравнению с  $1 \times 10^8$  гв/глаз (288,9 нг адалимумаб/г белка в сетчатке, что эквивалентно концентрации адалимумаба 439,3

мг/мл). Уровни экспрессии адалимумаба представлены в виде уровней адалимумаба (нг) на общий белок (г) (**Фиг. 7**) или концентрации адалимумаба в нг на мл (**Фиг. 8**).

[0267] Двойное иммунофлуоресцентное окрашивание подтвердило экспрессию адалимумаба (определяемую с использованием антител к IgG человека) в ПЭС.

**Таблица 10.**

	Воспаление глаза / сетчатки			
Временные точки / лечение	Носитель	AAV8.CAG.Adalimumab.IgG		
6 день	N	N	N	N
16 день	N	N	N	Да *5/6)

### 6.15 ПРИМЕР 15: Исследование *in vivo* 2

[0268] В этом исследовании полноразмерное антитело адалимумаб и антитело Fab адалимумаба в векторе на основе аденоассоциированного вируса (AAV) (AAV8.CAG.adalimumab.IgG и AAV8.CAG.adalimumab.Fab), а также Fc-слитый белок этанерцепт (AAV8.CAG.etanercept) оценивали на AAV-опосредованную экспрессию антител *in vivo* в тканях глаза мыши при местном введении (субретинальном (CP), **таблица 11**).

**Таблица 11.** Схема исследования

Группа	Вектор	ПВ	Ввод. Объем (мкл)	Доза (гв/глаз)	N (животные)	N (глаза)
1	AAV8.CAG.Ad	CP	1	1,00E+09	2	4
2	alimumab.IgG	CP	1	1,00E+08	2	4
3	AAV8.CAG.Ad	CP	1	1,00E+09	3	6
4	alimumab.Fab	CP	1	1,00E+08	3	6
5	AAV8.CAG.Et	CP	1	1,00E+09	3	6
6	anercept	CP	1	1,00E+08	3	6
7	Носитель	CP	1	1,00E+09	2	4

[0269] Векторизованные последовательности адалимумаба и этанерцепта были сконструированы и протестированы *in vitro*. Для этого исследования использовали молодых взрослых мышей B10.RIII (возраст 6-8 недель). Векторы, включающие AAV8.CAG.adalimumab.IgG (SEQ ID NO: 46), AAV8.CAG.adalimumab.Fab (SEQ ID NO: 49), AAV8.CAG.etanercept и носитель, доставляли в глаза мышей посредством субретинальной

(CP) инъекции в двух различных дозах ( $1 \times 10^8$  и  $1 \times 10^9$  гв/глаз) в 1 мкл буфера для состава (таблица 11).

[0270] Визуализацию глазного дна и ОКТ выполняли через 2 и 4 недели после субретинальной инъекции. Образцы глаз будут собирать через 4 недели после введения. Уровни экспрессии антител или слитого белка в тканях глаза количественно определяли с помощью ИФА. Специфичность клеточного типа определяли при помощи иммунофлуоресцентного окрашивания различными маркерами клеток сетчатки. Структурные изменения сетчатки и выживаемость нейронов оценивали с помощью гистологии и иммунофлуоресцентного окрашивания через 2 и 4 недели после введения.

[0271] AAV8.CAG.adalimumab.IgG хорошо переносился при уровне дозы  $1 \times 10^9$  (данные не показаны).

### 6.16 ПРИМЕР 16: Исследование *in vivo* 3

[0272] В этом исследовании полноразмерное и антитело Fab адалимумаба в векторе на основе аденоассоциированного вируса (AAV) (AAV8.CAG.adalimumab.IgG и AAV8.GRK1.adalimumab.Fab, а также контрольные AAV8.CAG.GFP и AAV9.CAG.GFP оценивали на AAV-опосредованную экспрессию антител *in vivo* в тканях глаза мыши при местном введении (таблица 12).

Таблица 12. Схема исследования

Группа	Вектор	ПВ	Ввод. Объем (мкл)	Доза (гв/глаз)	N (животные)	N (глаза)
1	AAV8.CAG.Ad	CP	1	$1,00E+09$	2	4
2	alimumab.IgG	CP	1	$1,00E+08$	2	4
3	AAV8.GRK1.A	CP	1	$1,00E+09$	3	6
4	dalimumab.Fab	CP	1	$1,00E+08$	3	6
5	AAV8.GFP	CP	1	$1,00E+09$	2	4
6		CP	1	$1,00E+08$	2	4
7	AAV9.GFP	CP	1	$1,00E+09$	2	4
8		CP	1	$1,00E+08$	2	4
9	Носитель	CP	1	-	2	4

[0273] Векторизованные последовательности адалимумаба были сконструированы и протестированы *in vitro*. Для этого исследования использовали молодых взрослых мышей B10.RIII (возраст 6-8 недель). Векторы, включающие AAV8.CAG.adalimumab.IgG (SEQ ID NO: 46), AAV8.GRK1.adalimumab.Fab (SEQ ID NO: 49), AAV8.GFP и AAV9.GFP, доставляли в глаза мышей путем субретинальной (CP) инъекции в двух разных дозах ( $1 \times 10^8$  и  $1 \times 10^9$

гв/глаз) в 1 мкл буфера для состава (таблица 12).

[0274] Визуализацию глазного дна и ОКТ выполняли через 2 и 4 недели после субретинальной инъекции. Образцы глаз будут собирать через 4 недели после введения. Уровни экспрессии антител или GFP в тканях глаза количественно определяли с помощью ИФА. Специфичность клеточного типа определяли при помощи иммунофлуоресцентного окрашивания различными маркерами клеток сетчатки. Структурные изменения сетчатки и выживаемость нейронов оценивали с помощью гистологии и иммунофлуоресцентного окрашивания через 2 и 4 недели после введения.

### 6.17 ПРИМЕР 17: Оценка кинетики связывания этанерцепта, экспрессируемого вектором

[0275] Оценивали экспрессию и очистку векторизованного адалимумаба из AAV, продуцируемого в глазах мыши. Кинетику связывания очищенного векторизованного адалимумаба с различными видами белка TNF $\alpha$  сравнивали с коммерчески производимым адалимумабом в различных анализах связывания лиганда.

[0276] *Аффинность связывания с использованием анализов Biacore™ (поверхностный плазмонный резонанс (ППР))*: было проведено исследование для измерения аффинности связывания различных молекул TNF-альфа (TNF $\alpha$ ) с очищенными антителами с использованием BiacoreT200. Во-первых, аффинность связывания TNF $\alpha$  с антителом, продуцируемым pAAV.CAG.Adalimumab, сравнивали со связыванием TNF $\alpha$  с коммерческим антителом адалимумабом. Во-вторых, проверяли аффинность связывания TNF $\alpha$  разных видов, чтобы определить пригодность белков TNF $\alpha$  различных видов для последующих исследований на животных моделях. Анализ Biacore проводили при 25°C с использованием HBS-EP+ в качестве рабочего буфера. Разбавленные антитела захватывали сенсорным чипом с помощью метода захвата Fc (время захвата 15-20 минут). Белки TNF $\alpha$  различных видов (человека, макаки, свиньи, мыши, собаки, кролика и крысы) тестировали по отдельности в качестве аналита с последующей инъекцией рабочего буфера в фазе диссоциации. Рассчитывали скорость диссоциации [ $K_{off}$  =  $K_d$  = скорость диссоциации антитела;  $K_{on}$  =  $K_a$  = скорость ассоциации антител;  $K_D$  =  $K_{off}/K_{on}$ ], и меньшие (более низкие) значения  $K_D$  указывали на большую аффинность антитела к его мишени.

**Таблица 13.**

Лиганд	Аналит	$k_a$ (1/Мс)	$k_d$ (1/с)	$K_D$ (М)
Адалимумаб	TNF $\alpha$ человека	4,08E+05	1,87E-04	4,58E-10
pAAV.CAG.Adalimumab	TNF $\alpha$ человека	3,98E+05	1,70E-04	4,28E-10
Адалимумаб	TNF $\alpha$ макака	2,60E+05	2,01E-04	7,72E-10
pAAV.CAG. Адалимумаб	TNF $\alpha$ макака	2,46E+05	1,77E-04	7,20E-10

Лиганд	Аналит	$k_a$ (1/Мс)	$k_d$ (1/с)	$K_D$ (М)
Адалимумаб	TNF $\alpha$ свиньи	3,03E+05	6,59E-04	2,17E-09
pAAV.CAG. Адалимумаб	TNF $\alpha$ свиньи	2,69E+05	5,52E-04	2,05E-09
Адалимумаб	TNF $\alpha$ мыши	1,39E+05	3,16E-04	2,27E-09
pAAV.CAG. Адалимумаб	TNF $\alpha$ мыши	1,51E+05	3,23E-04	2,13E-09
Адалимумаб	TNF $\alpha$ собаки	1.42E+05	2,11E-04	1,49E-09
pAAV.CAG. Адалимумаб	TNF $\alpha$ собаки	1.47E+05	2,27E-04	1,54E-09
Адалимумаб	TNF $\alpha$ кролика	Н/О	Н/О	5,28E-07
pAAV.CAG. Адалимумаб	TNF $\alpha$ кролика	Н/О	Н/О	6,14E-07
Адалимумаб	TNF $\alpha$ крысы	Н/О	Н/О	6,81E-07
pAAV.CAG. Адалимумаб	TNF $\alpha$ крысы	Н/О	Н/О	7,26E-07

Н/О: не обнаружено

[0277] *Кинетика связывания с помощью конкурентного ИФА*: Связывание с различными концентрациями мышинового или человеческого TNF $\alpha$  сравнивали в конкурентном анализе на основе ИФА как для экспрессированного вектором адалимумаба, экстрагированного из мышинового глаза (после субретинального введения), так и для коммерческого адалимумаба (**Фиг. 10А и 10В**, соответственно).

[0278] В анализах *Viacore* TNF-альфа каждого вида связывался с адалимумабом, продуцируемым клетками CHO, трансфицированными *цис*-плазмидами, экспрессирующими адалимумаб и коммерческий адалимумаб, по существу, на одном уровне. Аффинность связывания ( $K_D$ ) TNF $\alpha$  различных видов с векторизованным адалимумабом/адалимумабом ранжировали следующим образом: человек  $\geq$  макака > свинина = мышь = собака > кролик > крыса. Не ожидается, что крысиный TNF $\alpha$  будет конкурировать с человеческим TNF $\alpha$  в модели увеита у крыс (в которой IVT инъекция человеческого TNF $\alpha$  вводится для индукции увеита).

[0279] Согласно данным конкурентного анализа на основе ИФА, человеческий TNF $\alpha$  демонстрировал более чем в 100 раз более высокую аффинность к адалимумабу по сравнению с мышинным TNF $\alpha$ . В исследованиях *Viacore* человеческий TNF $\alpha$  проявлял в 5 раз более высокую аффинность к адалимумабу по сравнению с мышинным TNF $\alpha$ . Аффинность связывания адалимумаба с крысиным TNF $\alpha$  была незначительной, как сообщалось в литературных источниках для HUMIRA.

### 6.18 Пример 18: Измерение эффекторной функции антитела

[0280] Эффекторные функции антител, антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (АЗКЦ) и комплементзависимую цитотоксичность (КЗЦ)

продуцируемого вектором адалимумаба оценивали с помощью анализов *in vitro* и сравнивали с коммерческим адалимумабом (HUMIRA).

#### *Материалы и способы*

[0281] Целевые клетки (CHO/DG44-tm TNF $\alpha$ ; GenScript, кат. № RD00746) поддерживали в соответствующей полной культуральной среде при 37°C с 5% CO<sub>2</sub>. Эффекторные клетки (мононуклеарные клетки периферической крови, PBMC; Saily Bio, кат. № XFB-HP100B) оттаивали при 37°C и поддерживали в полной культуральной среде 1640 при 37°C с 5% CO<sub>2</sub>.

[0282] Для анализа доза-эффект АЗКЦ CHO/DG44-tm TNF $\alpha$  и PBMC использовали в качестве целевых клеток и эффекторных клеток, соответственно. При соотношении Е/Т (эффекторная клетка к целевой клетке) на уровне 25:1 адалимумаб (коммерческий) и человеческий IgG1 против CHO/DG44-tm TNF $\alpha$  повторно использовали в качестве положительного и отрицательного контроля, соответственно. Вкратце, стадии способа таковы:

CHO/DG44-tm TNF $\alpha$  (целевые клетки)

+

Образцы

+

PBMC (эффекторные клетки)

↓

% лизиса целевых клеток

[0283] Эффекторные клетки (PBMC) оттаивали и ресуспендировали в буфере для анализа (набор для обнаружения CellTiter-Glo® (Promega, кат. № G7573). Целевые клетки также размораживали и ресуспендировали в буфере для анализа АЗКЦ, затем переносили в суспензии на планшет для анализа в соответствии с картой планшета. Контрольные и тестируемые образцы в растворе также переносили на планшет для анализа, и планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут. Плотность эффекторных клеток регулировали в соответствии с соотношением Е/Т, затем суспензию эффекторных клеток переносили на планшет для анализа. Планшет для анализа затем инкубировали в инкубаторе для клеток (37°C/5% CO<sub>2</sub>) в течение 6 часов, извлекали, затем супернатант из соответствующих лунок планшета для анализа переносили в другой 96-луночный планшет для анализа. Смесь ЛДГ (набор LDH Cytotoxicity Assay Kit, Roche, кат. № 11644793001) переносили в соответствующие лунки второго 96-луночного планшета для анализа и считывали люминесценцию/оптическую плотность с помощью планшет-ридера PHERAStar® (BMG LABTECH).

[0284] Для исследования доза-эффект КЗЦ в качестве целевой клетки использовали CHO/DG44-tm TNF $\alpha$ . Адалимумаб и IgG1 человека против CHO/DG44-tm TNF $\alpha$  с 5% NHSC (комплемент сыворотки здорового человека) использовали в качестве положительного и отрицательного контроля, соответственно. Вкратце, стадии способа анализа КЗЦ:

CHO/DG44-tm TNF $\alpha$  (целевые клетки)

+

Образцы

+

NHSC

↓

% лизиса целевых клеток

[0285] Целевые клетки собирали путем центрифугирования и ресуспендировали в буфере для анализа (CellTiter-Glo® Detection Kit (Promega, кат. № G7573). Образцы и контроли готовили в растворе с буфером для анализа КЗЦ. Плотность целевых клеток регулировали, а затем клеточную суспензию переносили на планшет для анализа. Контрольные и испытуемые образцы в рабочем растворе также переносили на планшет для анализа, а затем планшет для анализа инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут, после чего в планшет для анализа добавляли рабочий раствор компонента сыворотки здорового человека (NHSC) (Quidel, кат. № A113). Планшет для анализа инкубировали в инкубаторе для клеток (37°C/5%CO<sub>2</sub>) в течение 4 часов, извлекали и в соответствующие лунки добавляли рабочий раствор Cell Titer-Glo®, после чего планшет инкубировали в течение около 10-30 минут при комнатной температуре. Данные люминесценции считывали на планшет-ридере PHERAStar® FSX (BMG LABTECH) для определения количества жизнеспособных клеток. Необработанные данные по исследованию АЗКЦ и КЗЦ экспортировали из системы PHERAStar® FSX и анализировали с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2016 и GraphPad Prism 6. Формула % АЗКЦ-опосредованного лизиса целевых клеток = 100\*(ОП образцы - ОП опухолевые клетки плюс эффекторные клетки) / (ОП максимальное высвобождение - ОП минимальное высвобождение). Формула % КЗЦ-опосредованного лизиса целевых клеток = 100\*(1-(RLU образцы - RLU NHSC) / (RLU клетка+NHSC - RLU NHSC)). Относительные значения EC50 получали с использованием четырехпараметрической функции следующим образом, характеризующей сигмовидную кривую, на которой процент лизиса целевых клеток зависит от концентрации тестируемых образцов:  $Y = \text{Низ} + (\text{Верх} - \text{Низ}) / (1 + 10^{-(\text{LogEC50} - X) * \text{угловой коэффициент Хилла}})$  = процент лизиса целевых клеток; и X = концентрация.

[0286] При соотношении Е/Т 25:1 клетки CHO/DG44-tm TNF $\alpha$  использовали в качестве целевых клеток в исследовании доза-эффект АЗКЦ. Доза-эффект и величины наилучшего согласия положительного контроля (адалимумаб), образцов и отрицательного контроля (человеческий IgG1) представлены в **таблице 14** и показаны на **Фиг. 11А**. Значение EC<sub>50</sub> адалимумаба составило 0,01288 мкг/мл.

**Таблица 14:** Активность АЗКЦ.

log (агонист) против эффекта - угловой коэффициент (четыре параметра)			
Величины наилучшего согласия			
ID	Адалимумаб	IgG1 человека	AAV-Адалимумаб
Низ	-2,723	Н/Д	-3,469
Верх	46,74		30,26
LogEC <sub>50</sub>	-1,89		-1,775
Угловой коэффициент Хилла	1,681		~1,800
<b>EC<sub>50</sub></b>	<b>0,01288</b>		<b>0,01678</b>
Диапазон	49,46		33,73

[0287] С 5% NHSC, клетки CHO/DG44-tm TNF $\alpha$  использовали в качестве целевых клеток в исследовании доза-эффект КЗЦ. Доза-эффект и величины наилучшего согласия положительного контроля (адалимумаб), образцов и отрицательного контроля (человеческий IgG1) представлены в **таблице 15** и показаны на **Фиг. 11В**. Значение EC<sub>50</sub> адалимумаба составило 0,4402 мкг/мл.

**Таблица 15.** Анализ КЗЦ.

log (агонист) против эффекта - угловой коэффициент (четыре параметра)			
Величины наилучшего согласия			
ID	Адалимумаб	IgG1 человека	AAV-Адалимумаб
Низ	4,576	Н/Д	3,099
Верх	96,68		89,35
LogEC <sub>50</sub>	-0,1203		0,9249
Угловой коэффициент Хилла	2,343		2,033
<b>EC<sub>50</sub></b>	<b>0,7580</b>		<b>8,413</b>
Диапазон	92,11		86,25

*Результаты и выводы:*

[0288] Значение EC50 положительного контроля (адалимумаб) в анализе АЗКЦ составляло 0,01288 мкг/мл, а значение EC50 положительного контроля в анализе КЗЦ составляло 0,758 мкг/мл. В экспериментальных условиях оба исследуемых образца эффективно опосредовали активность АЗКЦ и КЗЦ, а отрицательный контроль (человеческий IgG1) не индуцировал активность АЗКЦ и КЗЦ в отношении клеток CHO/DG44-tm TNF $\alpha$ . AAV-адалимумаб показал более низкую активность АЗКЦ и КЗЦ по сравнению с адалимумабом (HUMIRA®). Не ограничиваясь какой-либо одной теорией, различие может быть связано с посттрансляционной модификацией, такой как гликозилирование, которое, как ожидается, будет отличаться при производстве с помощью клеточной культуры. Меньший АЗКЦ/КЗЦ-опосредованный лизис клеток при применении адалимумаба из клеток, трансфицированных pAAV.CAG.adalimumab, по сравнению с HUMIRA® в той же дозе может быть полезным с точки зрения иммуногенности для интраокулярного введения AAV-адалимумаба.

**6.19 Пример 19: Характеристика модели взаимодействия с мишенью TNF-альфа человека (животная модель взаимодействия с мишенью TNF)**

[0289] Оценки аффинности связывания подтвердили (Пример 17, **таблица 13**), что мышинный TNF $\alpha$  связывается значительно слабее, чем человеческий TNF $\alpha$ , а адалимумаб не связывает крысиный TNF $\alpha$ . Следовательно, обогащение мишени (TNF $\alpha$ ) в этой модели может быть достигнуто путем инъекции человеческого TNF $\alpha$  в глаз крысы, где эндогенный TNF $\alpha$  при стимуляции не будет блокироваться (нейтрализован) или взаимодействовать с экзогенным адалимумабом, что обеспечивает нормальную активацию эндогенного рецептора. В этой модели избыток мишени TNF $\alpha$  человека, введенный в глаз, вызывает местное воспаление и может быть измерен до и после взаимодействия с экзогенным антителом (адалимумабом или AAV-адалимумабом) с помощью офтальмологических обследований. Эффект адалимумаба или AAV-адалимумаба на увеит, вызванный TNF-индуцированным воспалением, также будет наблюдаться и измеряться с помощью офтальмологического обследования и анализа тканей.

[0290] Чтобы охарактеризовать реакцию на дозу и временную динамику человеческого TNF $\alpha$ , введенного IVT, три (3) дозы человеческого TNF $\alpha$  вводили в глаза самкам крыс линии Льюис: низкая доза/50 нг/глаз, средняя доза/100 нг/глаз и высокая доза/170 нг/глаз. Образцы глаз собирали в каждый момент времени: 4 часа, 24 часа, 72 часа (3 день) и 168 часов (7 день), и в каждом образце измеряли TNF $\alpha$  человека.

**Таблица 16. Подробная информация об исследовании характеристик модели взаимодействия с мишенью hTNF $\alpha$**

Группа	Кол-во животных	Индукционный агент (доза на каждый глаз)	Путь введения и объем (OU)	Экспериментальные конечные точки (до 21 дня)
1	8	Носитель	Интравитреальный (5мкл)	<p><i>Масса тела:</i> до введения дозы и при аутопсии</p> <p><i>Офтальмологические обследования:</i> исходный уровень, 4 часа, 7 часов, 3 день и 7 день</p> <p><i>Ткани глаза (целые глазные яблоки):</i> отбирали у двух животных в каждый момент времени после инъекции (4 часа, 7 часов, 3 день и 7 день). Оба глаза хранили в замороженном виде при -80°C до проведения анализа.</p>
2	8	hTNF $\alpha$ (50 нг)		
3	8	hTNF $\alpha$ (100 нг)		
4	8	hTNF $\alpha$ (170 нг)		
5	2	Наивные	Н/Д	Были отобраны ткани глаза (целые глазные яблоки), которые служили исходными образцами
Использовали самок крыс линии Льюис (6-8 недель); глазные яблоки собирали свежими, взвешивали и быстро замораживали (-80°C).				

[0291] Способность TNF $\alpha$  человека индуцировать воспаление в глазу крыс измеряли при осмотре глаза в соответствии с рекомендациями EAU по клинической оценке Agarwal, RJ et al. ("Rodent Models of Experimental Autoimmune Uveitis." *Methods in Molecular Medicine*. 2004: Vol. 102, pp 395-419), как описано в **таблице 17**.

**Таблица 17**

Клиническая оценка EAU у крыс	
Степень <sup>a</sup>	Критерии
0	Отсутствие болезни: глаз прозрачен и отражает свет (розовый рефлекс).
0,5 (признаки заболевания)	Расширенные кровеносные сосуды в радужной оболочке
1	Переполненные кровеносные сосуды в радужной оболочке; аномальное сужение зрачка
2	Помутнение передней камеры; уменьшение розового рефлекса
3	Передняя камера умеренно непрозрачная, но зрачок все еще виден;

	бледно-розовый рефлекс
4	Непрозрачная передняя камера и помутнение зрачка; розовый рефлекс отсутствует; проптоз
<sup>a</sup> Каждая более высокая степень включает в себя критерии предыдущей	
Agarwal, RJ, et al. Rodent Models of Experimental Autoimmune Uveitis. <i>Methods in Molecular Medicine</i> . 2004: Vol 102, pp 395-419	

[0292] В исследовании показаны общие баллы по EAU в зависимости от времени для 3 (крыс) групп, которым вводили различные дозы hTNF $\alpha$ . Наивысший балл по EAU составил приблизительно 2 для дозы 170 нг hTNF $\alpha$ , введенной IVT. После 24 часов оценка снижается с течением времени до 1 балла по шкале EAU к 168 часам. См. **Фиг. 12**.

**6.20. Пример 20: Увеит, вызванный TNF-альфа человека, (модель взаимодействия с мишенью)**

[0293] TNF $\alpha$  представляет собой воспалительный цитокин, продуцируемый Т-клетками и макрофагами/моноцитами во время острого воспаления. Считается, что TNF- $\alpha$  играет ключевую роль в воспалении при увеите, например, в опосредовании активных форм кислорода, стимуляции ангиогенеза, разрушении гемато-ретиального барьера, гибели клеток сетчатки, активации и миграции Т-клеток. Уровень hTNF $\alpha$  повышен в водянистой влаге и сыворотке у пациентов с неинфекционным увеитом и считается «главным регулятором» воспалительного (иммунного) ответа во многих системах органов (Tracey D. et al., *Pharmacology & Therapeutics* 2008, 117, 244–27, Forrester JV et al., *American J Ophthalmology*, 2018,189: 77-85; Lee RW et al., *Semin Immunopathol*, 2014 36:581–59)

[0294] *Переносимость и реакция на дозу у нормальных крыс*: крысам линии Льюис трех когорты доз (низкая доза/1,0E+7 ГК/глаз, средняя доза/3,0E+8 ГК/глаз и высокая доза/1,0E+9 ГК/глаз) AAV8.CAG.adalimumab вводили субретинально (инъекции объемом 2,5 мкл). Офтальмологические обследования проводили на 7, 14 и 21 день после введения. У каждой крысы иссекали один глаз и оценивали в конце исследования (21 день) для измерения адалимумаба (например, ИФА) и один глаз для гистологии.

[0295] Адалимумаб измеряли с помощью ИФА с лунками, покрытыми рекомбинантным TNF человека (как в предыдущем примере). Субретинальная инъекция AAV8.CAG.Adalimumab при 1,0E+9 ГК/глаз и 3,0E+8 ГК/глаз обеспечивает 86,0 нг/глаз и 17,1 нг/глаз адалимумаба/глаз, соответственно, через 21 день после введения (крысы линии Льюис). См. **Фиг. 13**.

[0296] Усредненную клиническую оценку дозозависимого воспаления, индуцированного hTNF $\alpha$ , измеряли в несколько моментов времени в исследовании

характеристики модели TNF $\alpha$  (см. Пример 19 выше). Чтобы дополнительно продемонстрировать с помощью различных путей введения (например, субретинальной или супрахориоидальной инъекции), что векторизованный адалимумаб, доставляемый AAV, может ослаблять интравитреально инъецированный hTNF $\alpha$  в глазу крысы, была проведена дальнейшая характеристика дозы, чтобы выбрать подходящие дозы для модели TNF.

[0297] *Оценка тиковых уровней hTNF $\alpha$  и уровней адалимумаба в глазу в зависимости от времени: Для дальнейшей оценки уровней hTNF $\alpha$  через 24 часа после введения IVT крысам (см. Пример 19: Исследование характеристик взаимодействия с TNF $\alpha$  человека) исследовали эффект минимального разведения (матрицы).*

[0298] Твердофазный ИФА, разработанный для измерения TNF $\alpha$  человека в супернатантах клеточных культур (Quantikine Human TNF-alpha Immunoassay, R&D Systems, кат. № DTA00D), использовали для измерения hTNF $\alpha$  в образцах с добавлением по сравнению с серийными разведениями от 1:2 до 1:256 образцов hTNF $\alpha$  (170 нг), взятых из 24-часового образца глаза в предыдущем исследовании характеристик (Пример 19).

[0299] Модели увеита, индуцированного hTNF $\alpha$ , при 170 нг hTNF $\alpha$ /глаз быстро снижались до ~2,8 нг/глаз hTNF- $\alpha$  через 24 часа после инъекции IVT. Сообщалось, что комплексы адалимумаб-TNF, скорее всего, образуются в соотношении 3:1 (Bloemendaal et al. *J. Crohns and Colitis*, Volume 12, Issue 9, September 2018, pp. 1122–1130; Hu et al. *J. Biol. Chem.* 288, 27059–27067 (2013); Berkhout et al., *Sci Transl Med.*11(477), 2019). Адалимумаб имеет молекулярную массу (ММ) 148 кДа, а hTNF $\alpha$  имеет молекулярную массу субъединицы 17,3 кДа (молекулярная масса гомотримера = 51,9 кДа).

[0300] На основании экспрессии адалимумаба при самой высокой дозе, 1,0E+9 ГК/глаз векторизованного адалимумаба, 50 нг hTNF были выбраны для индукции модели.

[0301] *Эффективность векторизованного AAV-адалимумаба в модели TNF $\alpha$ .* Это исследование предназначено для определения потенциальной эффективности и распределения AAV-адалимумаба в модели взаимодействия, индуцированного hTNF $\alpha$ , у крыс. Количество животных, моменты времени сбора данных и параметры для измерения были выбраны исходя из минимума, необходимого для достижения целей исследования.

[0302] Вкратце, для оценки эффективности лечения векторизованным адалимумабом: (i) вектор (AAV8.CAG.adalimumab) вводят субретинально (СР) в оба глаза (OU) в дозе 1,0E+9 ГК/глаз на -21 день (за 21 день до введения TNF- $\alpha$ ) или (ii) 100, 150, 200 или 500 нг/глаз коммерческого адалимумаба (в 5 мкл), введенного IVT на -1 день (за 1 день до введения TNF- $\alpha$ ), затем 50 нг hTNF-альфа (индукция) вводили крысам линии Льюис путем интравитреальной (IVT) инъекции на 0 день. Массу тела измеряют до введения дозы и при аутопсии; офтальмологические обследования проводят на исходном уровне, через 4,

24 часа, а также на 3 и 7 день. Аутопсию проводят на 7 день, при этом один глаз на животное/группа анализируют на уровне трансгена/TNF $\alpha$ , а один глаз на животное/группу анализируют с помощью гистопатологического исследования. Результаты исследования представлены в **таблице 18**.

**Таблица 18. Дизайн эксперимента по обогащению мишени TNF- $\alpha$  на крысах:**

Группа	Кол-во животных	Лечение Путь введения (ПВ) 5 мкл/глаз	Путь Введения индукционно го агента, (ПВ)	Экспериментальные конечные точки	Аутопсия
1	10	Состав для буфера, IVT (5 мкл/глаз) -1 день	hTNF $\alpha$ , IVT (50 нг, 5 мкл/глаз)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Масса тела: До введения дозы и при аутопсии</li> <li>• Офтальмологические обследования: исходный уровень, 4, 24 часа и дни 3 и 7</li> </ul>	<b>7 день</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Один глаз на животное/группу на уровне трансгена/TNF<math>\alpha</math></li> <li>•Один глаз на животное/группу для гистопатологического исследования</li> </ul>
2	10	Буфер для состава, CP (2,5 мкл/глаз) -21 день			
3	10	Адалимумаб, IVT (5 мкл/глаз, 500 нг) -1 день			
4	10	AAV.Adalimumab, CP (2,5 мкл/глаз, 1,00E09) -21 день			
5*	4	Солевой раствор, IVT -14 день	Н/Д	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Масса тела: До введения дозы и при аутопсии</li> <li>• Офтальмологические</li> </ul>	<b>24 и 48 часов после введения дозы</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Оба глаза от n=2 животных/группа для определения</li> </ul>
6*	4	Адалимумаб, IVT			

Группа	Кол-во животных	Лечение Путь введения (ПВ) 5 мкл/глаз	Путь Введения индукционного агента, (ПВ)	Экспериментальные конечные точки	Аутопсия
		(100 нг/глаз) -14 день		<p>обследования: исходный уровень, -13 день, -12 день</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ткани глаза (целые глаза): через 24 и 48 часов (n=2 OU животных на момент времени) после IVT инъекции (-13 день и -12 день)</li> <li>• Сыворотка: через 24 и 48 часов (животные после умерщвления) после IVT инъекции (-13 день и -12 день)</li> </ul>	<p>уровня адалимумаба в тканях</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Сыворотка животных после умерщвления (n=2 животных/группа /момент времени) для определения системных уровней адалимумаба</li> </ul>
7*	4	Адалимумаб, IVT (150 нг/глаз) -14 день			
8*	4	Адалимумаб, IVT (200 нг/глаз) -14 день			
9	4	Адалимумаб, IVT (500 нг/глаз) -14 день			

\* Обратите внимание, что животные в группах 5-9 будут получать дозу перед группами 1 и 3, чтобы определить уровень дозы, необходимый для группы 3.

[0303] Отбор тканей: Группы 1-4 (Один глаз), Группы 5-8 (Все глаза). В моменты времени, указанные в таблице дизайна эксперимента, животные будут подвергнуты эвтаназии (протоколы будут одобрены IACUC). После эвтаназии водянистая влага (ВВ) будет собираться из обоих (OU) глаз с помощью инсулинового шприца с иглой 31 G. ВВ (10–15 мкл) распределяют в полипропиленовую пробирку, кратковременно центрифугируют для сбора жидкости на дно пробирки, а затем 10 мкл переносят в предварительно маркированную полипропиленовую пробирку с завинчивающейся крышечкой объемом 2 мл. Затем пробирки быстро замораживают и хранят при температуре -80°C до проведения анализа. После сбора ВВ глаза будут энуклеированы и быстро заморожены в отдельных пробирках, а затем сохранены при -80°C.

#### **6.21 Пример 21: Оценка регуляторных элементов (промоторов) в клетках сетчатки**

[0304] Несколько конструкций AAV были созданы с использованием GFP или адалимумаба под контролем различных промоторов и, необязательно, интрона VH4, как например:

- AAV8.CAG.GFP или адалимумаб
- AAV8.U1a.VH4.GFP или адалимумаб
- AAV8.CB.VH4.GFP или адалимумаб
- AAV8.CBlong.VH4.GFP или адалимумаб
- AAV8.GRK1.VH4.GFP или адалимумаб
- AAV8.Best1.VH4.GFP или адалимумаб
- AAV8.Best1.GRK1.VH4.GFP или адалимумаб

[0305] Последовательность каждого промотора представлена в **таблице 1** (см. выше). CAG считается сильным универсальным промотором, в то время как U1a или CB обеспечивают экспрессию на среднем уровне и являются универсальными по отношению к типу клеток. CBlong (удлиненный промотор CB +100 нуклеотидов 5'UTR от промотора куриного бета-актина) также будет тестироваться на силу промотора в условиях тестирования. BEST1 считается промотором, специфичным для RPE, тогда как GRK1 проявляет специфичность в отношении контроля транскрипции в фоторецепторных клетках. Также был получен тандемный промотор BEST1/GRK1. Тандемный промотор содержит модифицированную последовательность GRK1, так что любые стартовые кодоны (ATG) модифицированы (Т удален) для предотвращения получения нежелательных или абберрантных транскриптов. Интрон необязательно помещают ближе к промотору, выше кодирующей последовательности. Последовательности конструкций IgG адалимумаба

представлены в **таблице 8**.

[0306] AAV8.CAG.adalimumab и AAV8.GRK1.adalimumab тестировали на мышинной модели после субретинального введения вектора в двух разных дозах ( $1,0E=8$  или  $1,0E+09$ ), и общий адалимумаб экстрагировали и измеряли. Офтальмологические тесты (визуализация глазного дна и ОКТ) проводились в различные моменты времени. Через 4-5 недель после инъекции животных подвергали эвтаназии и аутопсии, после чего отбирали глазные яблоки. Ткани глаза (сетчатка, ПЭС и сосудистая оболочка и передние сегменты) собирали в отдельные пробирки и мгновенно замораживали в жидком азоте. Пробирки хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа. Правые глаза фиксировали в 4% параформальдегиде (PFA) в течение 1-2 часов, затем переносили в 1x PBS. В текущих условиях концентрация адалимумаба была самой высокой в ПЭС при управлении промотором CAG в дозе  $1,0E+8$ .

[0307] Кроме того, клетки сетчатки ARPE-19 были трансфицированы рецептором AAV (AAVR; Pillay et al. *Curr Opin Virol.* 2017 June; 24: 124–131. doi:10.1016/j.coviro.2017.06.003). Затем клетки ARPE-AAVR трансфицировали *цис*-плазмидами AAV, экспрессирующими GFP под контролем различных промоторов, и исследовали на экспрессию GFP. Сильная экспрессия GFP, управляемая промотором CB, наблюдается в клетках ARPE, тогда как гены BEST1, GRK1 и BEST1/GRK, управляемые промотором, были сопоставимы в тестируемых условиях.

### **ЭКВИВАЛЕНТЫ**

[0308] Хотя изобретение подробно описано со ссылкой на его конкретные варианты осуществления, следует понимать, что варианты, которые являются функционально эквивалентными, находятся в пределах объема этого изобретения. Действительно, различные модификации изобретения в дополнение к тем, которые показаны и описаны в данном документе, станут очевидны специалистам в данной области техники из вышеприведенного описания и сопроводительных графических материалов. Предполагается, что такие модификации подпадают под объем прилагаемой формулы изобретения. Специалистам в данной области техники станет понятно или они смогут установить, используя не более чем рутинные эксперименты, существование многочисленных эквивалентов конкретных вариантов осуществления изобретения, описанных в данном документе. Такие эквиваленты должны охватываться следующей формулой изобретения.

[0309] Все публикации, патенты и заявки на патенты, упомянутые в данном описании, включены в данный документ посредством ссылки в той же мере, как если бы каждая отдельная публикация, патент или заявка на патент были специально и

индивидуально указаны для включения в данный документ посредством ссылки во всей их полноте.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для лечения неинфекционного увеита у субъекта-человека, нуждающегося в этом, содержащая вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV), имеющий:
  - (с) вирусный капсид, имеющий тропизм к клеткам ткани глаза; и
  - (d) искусственный геном, содержащий кассету экспрессии, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, при этом кассета экспрессии содержит трансген, кодирующий тяжелую цепь и легкую цепь по существу полноразмерного или полноразмерного мкАт к TNF $\alpha$ , мкАТ к IL6 или мкАт к IL6R, или их антигенсвязывающего фрагмента, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые способствуют экспрессии трансгена в клетках ткани глаза человека;
 при этом указанный вектор AAV составлен для субретинального, интравитреального, интраназального, интракамерального, супрахориоидального или системного введения указанному субъекту-человеку.
2. Фармацевтическая композиция по п. 1, отличающаяся тем, что вирусный капсид имеет по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью серотипа 1 (AAV1), серотипа 2 (AAV2), серотипа AAV2.7m8 (AAV2.7m8), серотипа 3 (AAV3), серотипа 3B (AAV3B), серотипа 4 (AAV4), серотипа 5 (AAV5), серотипа 6 (AAV6), серотипа 7 (AAV7), серотипа 8 (AAV8), серотипа rh8 (AAVrh8), серотипа 9 (AAV9), серотипа 9e (AAV9e), серотипа rh10 (AAVrh10), серотипа rh20 (AAVrh20), серотипа rh39 (AAVrh39), серотипа hu.37 (AAVhu.37), серотипа rh73 (AAVrh73), серотипа rh74 (AAVrh74), серотипа hu51 (AAV.hu51), серотипа hu21 (AAV.hu21), серотипа hu12 (AAV.hu12) или серотипа hu26 (AAV.hu26) AAV.
3. Фармацевтическая композиция по п. 1 или п. 2, отличающаяся тем, что капсид AAV представляет собой AAV8, AAV3B, AAV2.7m8 или AAVrh73.
4. Фармацевтическая композиция по пп. 1–3, отличающаяся тем, что клетка ткани глаза представляет собой клетку роговицы, клетку радужной оболочки, клетку цилиарного тела, клетку шлеммова канала, клетку трабекулярной сети, клетку сетчатки, клетку ткани ПЭС-хориоидеи или клетку зрительного нерва.
5. Фармацевтическая композиция по пп. 1–4, отличающаяся тем, что регуляторная последовательность включает регуляторную последовательность из таблицы 1.
6. Фармацевтическая композиция по п. 5, отличающаяся тем, что регуляторная последовательность представляет собой промотор CAG (SEQ ID NO: 74), промотор CB (SEQ ID NO: 273 или 274), промотор родопсинкиназы человека (GRK1) (SEQ ID

- NO:77 или 217), промотор аррестина колбочек мыши (CAR) (SEQ ID NO: 214–216), промотор красного опсина человека (RedO) (SEQ ID NO: 212) или тандемный промотор Best1/GRK1 (SEQ ID NO: 275).
7. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–6, отличающаяся тем, что трансген содержит линкер фурин/2A между нуклеотидными последовательностями, кодирующими тяжелую и легкую цепи указанного мкАт.
  8. Фармацевтическая композиция по п. 7, отличающаяся тем, что указанный линкер фурин 2A представляет собой линкер фурин/T2A, имеющий аминокислотную последовательность RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:143 или 144).
  9. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–8, отличающаяся тем, что трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках ткани глаза человека.
  10. Фармацевтическая композиция по п. 9, отличающаяся тем, что указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLIASLALVTNS (SEQ ID NO: 85) или сигнальную последовательность из таблицы 2.
  11. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–10, отличающаяся тем, что трансген имеет структуру: сигнальная последовательность – тяжелая цепь – сайт фурина – сайт 2A – сигнальная последовательность – легкая цепь – поли(A).
  12. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–11, отличающаяся тем, что антитело к TNF $\alpha$  представляет собой адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб или их антигенсвязывающий фрагмент.
  13. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–12, отличающаяся тем, что полноразмерное мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6.
  14. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–13, отличающаяся тем, что

транскрипт содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 26, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 27, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 28, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 29, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 30, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 31, кодирующую легкую цепь.

15. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–11, отличающаяся тем, что антитело к IL6 или к IL6R представляет собой сатрализумаб, сарилумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилизумаб или тоцилизумаб, или их антигенсвязывающий фрагмент.
16. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–11 или п. 15, отличающаяся тем, что полноразмерное мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 7 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 185 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12; содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 16; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 18; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 и легкую цепь с

- аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22.
17. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1, 11 или 15–16, отличающаяся тем, что трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 32, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 33, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 34, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 35, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 36, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 37, кодирующую легкую цепь; при этом трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 38, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 39, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 40, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 41, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 42, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 43, кодирующую легкую цепь; при этом трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 44, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 45, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 183, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 184, кодирующую легкую цепь.
  18. Фармацевтическая композиция по пп. 1–17, отличающаяся тем, что антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, F(ab')<sub>2</sub> или scFv.
  19. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–18, отличающаяся тем, что мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой гипергликозилированный мутант или отличающаяся тем, что полипептид Fc мкАт гликозилирован или агликозилирован.
  20. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–19, отличающаяся тем, что искусственный геном является самокомплементарным.
  21. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1–20, отличающаяся тем, что искусственный геном представляет собой конструкцию EF1ac.Vh4i.Adalimumab.Fab scAAV, mU1a.Vh4i.Adalimumab.Fab scAAV, CAG.Adalimumab.IgG, CAG.Adalimumab.Fab, GRK1.Vh4i.Adalimumab.IgG, CB.VH4i.adalimumab.IgG или Best1/GRK1.VH4i.adalimumab.IgG.
  22. Композиция, содержащая вектор аденоассоциированного вируса (AAV), имеющий:
    - а. вирусный капсид AAV, который необязательно имеет по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью серотипа 1 (AAV1), серотипа

- 2 (AAV2), серотипа 3 (AAV3), серотипа 3В (AAV3В), серотипа 4 (AAV4), серотипа 5 (AAV5), серотипа 6 (AAV6), серотипа 7 (AAV7), серотипа 8 (AAV8), серотипа rh8 (AAVrh8), серотипа 9 (AAV9), серотипа 9е (AAV9е), серотипа rh10 (AAVrh10), серотипа rh20 (AAVrh20), серотипа rh39 (AAVrh39), серотипа hu.37 (AAVhu.37), серотипа rh73 (AAVrh73), серотипа rh74 (AAVrh74), серотипа hu51 (AAV.hu51), серотипа hu21 (AAV.hu21), серотипа hu12 (AAV.hu12) или серотипа hu26 (AAV.hu26) AAV; и
- b. искусственный геном, содержащий кассету экспрессии, фланкированную инвертированными концевыми повторами (ITR) AAV, при этом кассета экспрессии содержит трансген, кодирующий тяжелую и легкую цепи по существу полноразмерного или полноразмерного мкАт к TNF $\alpha$ , антитела к IL6 или антитела к IL6R, или их антигенсвязывающего фрагмента, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые способствуют экспрессии трансгена в клетках ткани глаза человека;
- c. при этом трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного мкАт, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию указанного мкАт в клетках ткани глаза.
23. Композиция по п. 22, отличающаяся тем, что клетка ткани глаза представляет собой клетку роговицы, клетку радужной оболочки, клетку цилиарного тела, клетку шлеммова канала, клетку трабекулярной сети, клетку сетчатки, клетку ткани ПЭС-хориоидеи или клетку зрительного нерва.
24. Композиция по п. 22 или п. 23, отличающаяся тем, что капсид AAV представляет собой AAV2.7m8, AAV8, AAV3В или AAVrh73.
25. Композиция по пп. 22–24, отличающаяся тем, что антитело к TNF $\alpha$  представляет собой адалимумаб, инфликсимаб или голимумаб, или их антигенсвязывающий фрагмент.
26. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 22–25, отличающаяся тем, что полноразмерное мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5 и необязательно полипептид Fc

- с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6.
27. Фармацевтическая композиция по пп. 22–26, отличающаяся тем, что трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 26, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 27, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 28, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 29, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 30, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 31, кодирующую легкую цепь.
28. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 22–27, отличающаяся тем, что антитело к IL6 или к IL6R представляет собой сатрализумаб, сарилумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилизумаб или тоцилизумаб, или их антигенсвязывающий фрагмент.
29. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 22–24 или п. 27, отличающаяся тем, что полноразмерное мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 7 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 185 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12; содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 16; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 18; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; или тяжелую цепь с

- аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22.
30. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 22–24 или пп. 28–29, отличающаяся тем, что трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 32, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 33, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 34, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 35, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 36, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 37, кодирующую легкую цепь; при этом трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 38, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 39, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 40, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 41, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 42, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 43, кодирующую легкую цепь; при этом трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 44, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 45, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 183, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 184, кодирующую легкую цепь.
31. Композиция по любому из пп. 22–30, отличающаяся тем, что трансген содержит линкер фурин/2A между нуклеотидными последовательностями, кодирующими тяжелую и легкую цепи указанного мкАт.
32. Композиция по любому из пп. 22–31, отличающаяся тем, что нуклеиновая кислота, кодирующая линкер фурин 2A, включена в кассету экспрессии между нуклеотидными последовательностями, кодирующими последовательности тяжелой и легкой цепей, в результате чего образуется конструкция со структурой: Сигнальная последовательность – тяжелая цепь – сайт фурина – сайт 2A – сигнальная последовательность – легкая цепь – поли(A).
33. Композиция по пп. 22–32, отличающаяся тем, что указанный линкер фурин 2A представляет собой линкер фурин/T2A, имеющий аминокислотную последовательность RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO:143 или 144).
34. Композиция по любому из пп. 22–33, отличающаяся тем, что указанная сигнальная

- последовательность представляет собой MYRMLQLLLLIALLSLALVTNS (SEQ ID NO: 85) или сигнальную последовательность из таблицы 2.
35. Композиция по любому из пп. 22–34, отличающаяся тем, что искусственный геном является самокомплементарным.
  36. Композиция по любому из пп. 22–27 или пп. 31–35, отличающаяся тем, что искусственный геном представляет собой конструкцию EF1ac.Vh4i.Adalimumab.Fab scAAV, mU1a.Vh4i.Adalimumab.Fab scAAV, CAG.Adalimumab.IgG, CAG.Adalimumab.Fab, GRK1.Vh4i.Adalimumab.IgG, CB.VH4i.adalimumab.IgG или Best1/GRK1.VH4i.adalimumab.IgG.
  37. Способ лечения неинфекционного увеита у субъекта-человека, нуждающегося в этом, включающий субретинальное, интравитреальное, интраназальное, интракамеральное, супрахориоидальное или системное введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции, содержащей рекомбинантный AAV, содержащий трансген, кодирующий мкАт к TNF $\alpha$ , мкАт к IL6 или мкАт к IL6R, или его антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ткани глаза.
  38. Способ лечения неинфекционного увеита у субъекта-человека, нуждающегося в этом, включающий: субретинальное, интравитреальное, интраназальное, интракамеральное, супрахориоидальное или системное введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества рекомбинантного нуклеотидного вектора экспрессии, содержащего трансген, кодирующий мкАт к TNF $\alpha$ , мкАт к IL6 или мкАт к IL6R, или их антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые контролируют экспрессию трансгена в клетках ткани глаза человека, так что образуется депо, которое высвобождает человеческую посттрансляционно модифицированную (чПМ) форму мкАт к TNF $\alpha$ , мкАт к IL6 или мкАт к IL6R, или их антигенсвязывающего фрагмента.
  39. Способ по п. 37 или п. 38, отличающийся тем, что мкАт к TNF $\alpha$  представляет собой адалимуаб, инфликсимаб или голимуаб.
  40. Способ по пп. 37–39, отличающийся тем, что полноразмерное мкАт к TNF $\alpha$  или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 64 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2; или тяжелую цепь с аминокислотной

- последовательностью SEQ ID NO: 3 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 65 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6.
41. Способ по пп. 37–40, отличающийся тем, что трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 26, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 27, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 28, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 29, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 30, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 31, кодирующую легкую цепь.
42. Способ по любому из пп. 37–38, отличающийся тем, что антитело к IL6 или к IL6R представляет собой сатрализумаб, сарилумаб, силтуксимаб, клазакизумаб, сирукумаб, олокизумаб, герилизумаб или тоцилизумаб, или их антигенсвязывающий фрагмент.
43. Способ по любому из пп. 37–38 или 42, отличающийся тем, что полноразмерное мкАт или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 7 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 67 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 185 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12; содержит тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 16; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 и легкую цепь с

- аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 18; тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19, и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 20; или тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21 и необязательно полипептид Fc с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72 и легкую цепь с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22.
44. Способ по любому из пп. 37–38 или пп. 42–43, отличающийся тем, что трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 32, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 33, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 34, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 35, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 36, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 37, кодирующую легкую цепь; при этом трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 38, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 39, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 40, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 41, кодирующую легкую цепь; нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 42, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 43, кодирующую легкую цепь; при этом трансген содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 44, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 45, кодирующую легкую цепь; или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 183, кодирующую тяжелую цепь, и нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 184, кодирующую легкую цепь.
45. Способ по пп. 37–44, отличающийся тем, что клетка ткани глаза представляет собой клетку роговицы, клетку радужной оболочки, клетку цилиарного тела, клетку шлеммова канала, клетку трабекулярной сети, клетку сетчатки, клетку ткани ПЭС-хориоидеи или клетку зрительного нерва.
46. Способ по пп. 37–44, отличающаяся тем, что вирусный капсид имеет по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью серотипа 1 (AAV1), серотипа 2 (AAV2), серотипа AAV2.7m8 (AAV2.7m8), серотипа 3 (AAV3), серотипа 3В (AAV3В), серотипа 4 (AAV4), серотипа 5 (AAV5), серотипа 6 (AAV6), серотипа 7 (AAV7), серотипа 8 (AAV8), серотипа rh8 (AAVrh8), серотипа 9 (AAV9), серотипа 9e (AAV9e), серотипа rh10 (AAVrh10), серотипа rh20 (AAVrh20), серотипа rh39 (AAVrh39), серотипа hu.37 (AAVhu.37), серотипа rh73 (AAVrh73), серотипа rh74

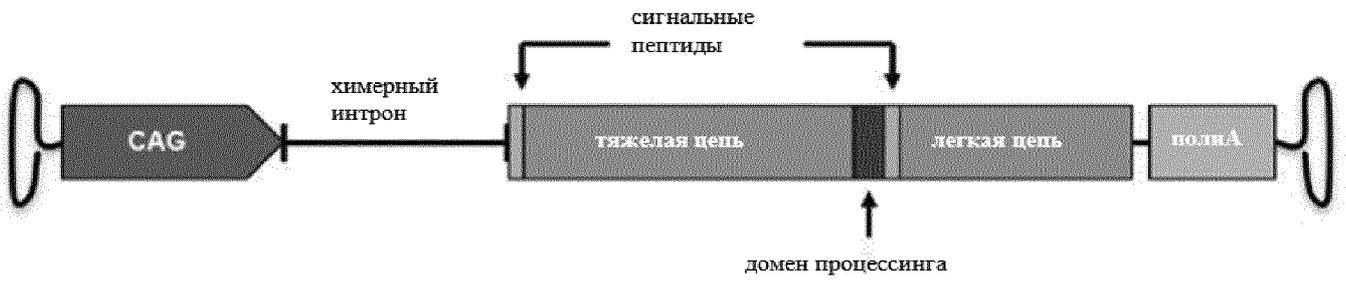
- (AAVrh74), серотипа hu51 (AAV.hu51), серотипа hu21 (AAV.hu21), серотипа hu12 (AAV.hu12) или серотипа hu26 (AAV.hu26) AAV.
47. Способ по любому из пп. 37–46, отличающийся тем, что капсид AAV представляет собой AAV2.7m8, AAV8, AAV3B или AAVrh73.
  48. Способ по любому из пп. 37–46, отличающийся тем, что регуляторная последовательность включает регуляторную последовательность из таблицы 1 или таблицы 1a.
  49. Способ по п. 48, отличающийся тем, что регуляторная последовательность представляет собой промотор CAG (SEQ ID NO: 74), промотор CB (SEQ ID NO: 273 или 274), промотор родопсинкиназы человека (GRK1) (SEQ ID NO: 77 или 217), промотор аррестина колбочек мыши (CAR) (SEQ ID NO: 214–216), промотор красного опсина человека (RedO) (SEQ ID NO: 212) или тандемный промотор Best1/GRK1 (SEQ ID NO: 275).
  50. Способ по любому из пп. 37–49, отличающийся тем, что трансген содержит линкер фурин/2A между нуклеотидными последовательностями, кодирующими тяжелую и легкую цепи указанного мкАт.
  51. Способ по п. 50, отличающийся тем, что указанный линкер фурин 2A представляет собой линкер фурин/Т2А, имеющий аминокислотную последовательность RKRR(GSG)APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 143 или 144).
  52. Способ по любому из пп. 37–51, отличающийся тем, что трансген кодирует сигнальную последовательность на N-конце тяжелой цепи и легкой цепи указанного антигенсвязывающего фрагмента, которая направляет секрецию и посттрансляционную модификацию в указанных клетках ткани глаза человека.
  53. Способ по п. 52, отличающийся тем, что указанная сигнальная последовательность представляет собой MYRMQLLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 85) или сигнальную последовательность из таблицы 2.
  54. Способ по любому из пп. 37–53, отличающийся тем, что трансген имеет структуру: Сигнальная последовательность – тяжелая цепь – сайт фурина – сайт 2A – сигнальная последовательность – легкая цепь – поли(A).
  55. Способ по любому из пп. 37–54, отличающийся тем, что мкАт представляет собой гипергликозилированный мутант или при этом полипептид Fc мкАт гликозилирован или агликозилирован.
  56. Способ по любому из пп. 37–55, отличающийся тем, что мкАт содержит альфа-2,6-сиалилированный гликан.
  57. Способ по любому из пп. 37–56, отличающийся тем, что мкАт является

- гликозилированным, но не содержит обнаруживаемый NeuGc и/или  $\alpha$ -Gal.
58. Способ по любому из пп. 37–57, отличающийся тем, что мкАт имеет сульфатирование тирозина.
59. Способ по любому из пп. 37–58, отличающийся тем, что продуцирование указанной чПМ формы указанного мкАт или его антигенсвязывающего фрагмента подтверждается путем трансдукции клеток ткани глаза человека в культуре указанным рекомбинантным нуклеотидным вектором экспрессии и экспрессии указанного мкАт или его антигенсвязывающего фрагмента.
60. Способ по п. 37 или п. 59, отличающийся тем, что терапевтически эффективное количество определено как достаточное для поддержания концентрации по меньшей мере 10 нг/мл в водянистой влаге, стекловидном теле, ПЭС, сетчатке и/или переднем сегменте/камере.
61. Способ по п. 37 или п. 60, отличающийся тем, что терапевтически эффективное количество определяется как достаточное для улучшения остроты зрения с максимальной коррекцией (BCVA) на  $\geq 2$  строки по таблице ETDRS или увеличения logMAR, снижения воспалительной активности передней и задней камеры в соответствии с классификацией SUN и/или снижения степени помутнения стекловидного тела.
62. Способ по любому из пп. 37–61, отличающийся тем, что гAAV является самокомплементарным.
63. Способ по любому из пп. 37–62, отличающийся тем, что трансген в составе конструкции EF1ac.Vh4i.Adalimumab.Fab scAAV, mU1a.Vh4i.Adalimumab.Fab scAAV, CAG.Adalimumab.IgG, CAG.Adalimumab.Fab, GRK1.Vh4i.Adalimumab.IgG, CB.VH4i.adalimumab.IgG или Best1/GRK1.VH4i.adalimumab.IgG.
64. Способ получения рекомбинантных AAV, включающий:
- (с) культивирование клетки-хозяина, содержащей:
    - (i) искусственный геном, содержащий *цис*-кассету экспрессии, фланкированную ITR AAV, при этом *цис*-кассета экспрессии содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное мкАт к TNF $\alpha$ , к IL6 или к IL6R, или их антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые способствуют экспрессии трансгена в клетках ткани глаза человека;
    - (ii) *транс*-кассету экспрессии, лишенную ITR AAV, при этом транс-кассета экспрессии кодирует гер AAV и капсидный белок AAV, функционально

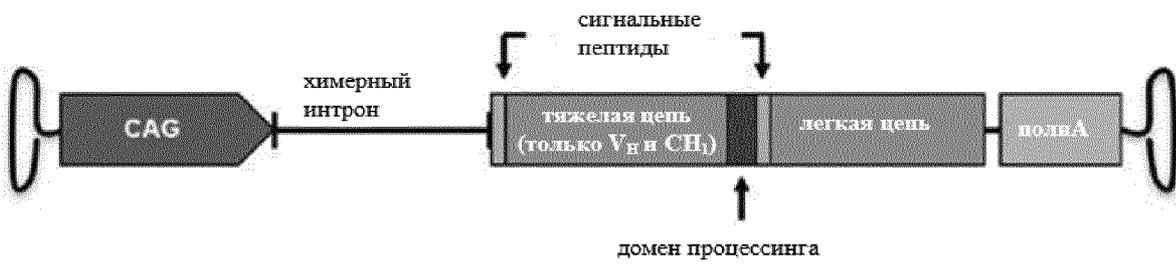
- связанную с элементами контроля экспрессии, которые управляют экспрессией гер AAV и капсидного белка AAV в клетке-хозяине в культуре и обеспечивает гер AAV и капсидный белок AAV в *транс*-расположении; при этом капсид имеет тропизм к клеткам тканей глаза;
- (iii) достаточное количество хелперных функций аденовируса для обеспечения репликации и упаковки искусственного генома капсидным белком AAV; и
- (d) выделение рекомбинантного AAV, инкапсулирующего искусственный геном, из культуры клеток.
65. Способ по п. 64, отличающийся тем, что трансген кодирует по существу полноразмерное или полноразмерное мкАт или антигенсвязывающий фрагмент, которые содержат переменные домены тяжелой и легкой цепи из адалимумаба, инфликсимаба, голимумаба, сатрализумаба, сарилумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилизумаба или тоцилизумаба, при этом капсидный белок AAV представляет собой капсидный белок AAV2.7m8, AAV8, AAV3B или AAVrh73.
66. Способ по п. 64 или п. 65, отличающийся тем, что клетка ткани глаза представляет собой клетку роговицы, клетку радужной оболочки, клетку цилиарного тела, клетку шлеммова канала, клетку трабекулярной сети, клетку сетчатки, клетку ткани ПЭС-хориоидеи или клетку зрительного нерва.
67. Клетка-хозяин, содержащая:
- d. искусственный геном, содержащий *цис*-кассету экспрессии, фланкированную ITR AAV, при этом *цис*-кассета экспрессии содержит трансген, кодирующий по существу полноразмерное или полноразмерное мкАт к TNF $\alpha$ , мкАт к IL6 или мкАт к IL6R, или их антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями, которые способствуют экспрессии трансгена в клетках ткани глаза человека;
  - e. *транс*-кассету экспрессии, лишенную ITR AAV, при этом *транс*-кассета экспрессии кодирует гер AAV и капсидный белок AAV, функционально связанную с элементами контроля экспрессии, которые управляют экспрессией гер AAV и капсидного белка AAV в клетке-хозяине в культуре и обеспечивает гер AAV и капсидный белок AAV в *транс*-расположении; при этом капсид имеет тропизм к клеткам тканей глаза;
  - f. достаточное количество хелперных функций аденовируса для обеспечения репликации и упаковки искусственного генома капсидным белком AAV.

68. Клетка-хозяин по п. 67, отличающаяся тем, что трансген кодирует по существу полноразмерное или полноразмерное мкАт или антигенсвязывающий фрагмент, которые содержат переменные домены тяжелой и легкой цепи из адалимумаба, инфликсимаба, голимумаба, сатрализумаба, сарилумаба, силтуксимаба, клазакизумаба, сирукумаба, олокизумаба, герилизумаба или тоцилизумаба.
69. Клетка-хозяин по п. 67 или п. 68, отличающаяся тем, что капсидный белок AAV представляет собой капсидный белок AAV2.7m8, AAV8, AAV3B или AAVrh73.
70. Клетка-хозяин по пп. 67–69, отличающаяся тем, что клетка ткани глаза представляет собой клетку роговицы, клетку радужной оболочки, клетку цилиарного тела, клетку шлеммова канала, клетку трабекулярной сети, клетку сетчатки, клетку ткани ПЭС-хориоидеи или клетку зрительного нерва.

Фиг. 1А



Фиг. 1В



## Фиг. 2А Конструкция Fab IgG1 адалимумаба

Лидер (SEQ ID NO: 85):

MYRMQLLLLIALLSLALVTNS

Тяжелая цепь адалимумаба (SEQ ID NO: 1):

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAI **TWNSGHIDY**  
 ADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVVYCAKVSYLSTASSLDYWG**QGT**LVTVS  
 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV**SWNSG**ALTSQVHTFPAVLQS  
 SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK**EPKSCD** +/- **KTHT** (или **KIHL**) +/- **CPPCPA**  
 +/- **PELLGGPSVFL**

Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLTCTGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)  
 (SEQ ID NO: 129, 128, 133, 135; полноразмерные последовательности, описанные как SEQ ID NO:  
 142 и 144, соответственно)

Лидер (SEQ ID NO: 85):

MYRMQLLLLIALLSLALVTNS

Легкая цепь адалимумаба (SEQ ID NO: 2)

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASOGIRNYLAWYQOKPGKAPKLLIYAAS**T**LQSGVPS  
 RFGSGSGTDFTLTITSSLPEDVATYYCQRYNRAPYTFG**QGT**KVEIKRTVAAPSVFIFPP  
 SDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQ**SGNSQ**ESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT  
 LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK**SFN**RGEC

Легенда по тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты (спрогнозировано для адалимумаба)

**FIFDDYA** и **EDIAVY** = сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 263 и 256)

QGT = сайт гликозилирования по глутамину (Q)

**(S/T)XN** = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)**EPKSCDKIHTCPPCPPELLGG** = Шарнирная область (SEQ ID NO: 153)

или

**EPKSCDKIHLCPPCPPELLGG** = Шарнирная область (SEQ ID NO: 154)

Легенда по легкой цепи:

CDR подчеркнуты (спрогнозировано для адалимумаба)

**EDVATY** = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 271)

QGT = сайт гликозилирования по глутамину (Q)

**(S/T)XN** = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

## Фиг. 2В Конструкция Fab IgG1 инфликсимаба

Лидер (SEQ ID NO: 85):

MYRMQLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь инфликсимаба (SEQ ID NO: 3):

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRSPEKGLEWVAEIRSKSINSAT  
 HYAESVKGRFTISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVVYC SRNYYGSTYDYWGQGTTLTVSS  
 ASTKGPVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
 GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCD +/- KTHT (или KT  
 HL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL

Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLTCDGVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)  
 (SEQ ID NO: 129, 128, 133, 135; полноразмерные последовательности, описанные как SEQ ID NO:  
 142 и 144, соответственно)

Лидер (SEQ ID NO: 85):

MYRMQLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь инфликсимаба (SEQ ID NO: 4)

DILLTQSPAILSVSPGERVSPFCRASQFVGGSSIHWYQORTNGSPRLLIKYASESMSGIPS  
 RFGSGSGTDFTL SINTVES EDIADYYCOQSHSWPFTFGSGTNLEVKRTVAAPSVFIFPP  
 SDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT  
 LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

## Легенда по тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты (спрогнозировано для инфликсимаба)

EDTGVVY = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 269)

QGT = сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

EPKSCDKTHTCPPCPPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 153)

или

EPKSCDKTHLCPAPPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 154)

## Легенда по легкой цепи:

CDR подчеркнуты (спрогнозировано для инфликсимаба)

EDIADYY = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 270)

NX(S/T) = Консенсусный сайт гликозилирования

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

## Фиг. 2С КОНСТРУКЦИЯ FАВ IgG1 ГОЛИМУМАБА:

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLALVTNS

Тяжелая цепь голимумаба (SEQ ID NO: 5)

SKLQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFI FSSYAMHWVRQAPGNGLWVAFMSYDGSN  
 KKYADSVKGRFTISRDN **SKN**TLYLQMNSLRA**EDTAVYY**CARDRGIAAGGNYYYY**GMDVWG**  
**QGT**TVTVSSASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV **SWNS**GALTSGVH  
 TTPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVKV **EPKSCD** +/- **KT**  
**HT** (или **KIHL**) +/- **CPPCPA** +/- **PELLGG**PSVFL

Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLTTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)

(SEQ ID NO: 129, 128, 133, 135; полноразмерные последовательности, описанные как SEQ ID NO: 142 и 144, соответственно)

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLALVTNS

Легкая цепь голимумаба (SEQ ID NO: 6)

AGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTG  
 IPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPE**EDFAVYY**CQORSNWPFPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVF  
 IFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQ **SGNS**QESVTEQDSKDYSTYLS  
 STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK **SFN**RGEC

Легенда по тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты

**YYGMD** и **EDTAVYY** = сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 268 и 256)**QGT** = сайт гликозилирования по глутамину (Q)**(S/T)XN** = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)**EPKSCDKIHTCPPCPPELLGG** = Шарнирная область (SEQ ID NO: 153)

или

**EPKSCDKIHLCPPCPPELLGG** = Шарнирная область (SEQ ID NO: 154)

Легенда по легкой цепи:

CDR подчеркнуты

**EDFAVYY** = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 259)**(S/T)XN** = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

## Фиг. 3А КОНСТРУКЦИЯ FАВ IgG2 САТРАЛИЗУМАБА:

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLSLALVTNS

Тяжелая цепь сатрализумаба (SEQ ID NO: 7)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGHSISHDHAWSWVRQPPGEGLEWIGFISYSGITNY  
 NPSLQGRVTISRDN **SKN** TLYLQMNLSLRA **EDTAVYY** CARSLARTTAMDYWGEGTLVTVSSA  
 STKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV **SWN** SGALTSQVHTFPAVLQSSG  
 LYSLSVVTV **SSN** FGTQT **TCNV** DHKPNTKVDKTV **ERKSCVE** +/- CPECPA +/- P  
**PVAG**

Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLTCDGVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)  
 (SEQ ID NO: 129, 128, 133, 135; полноразмерные последовательности, описанные как SEQ ID NO:  
 142 и 144, соответственно)

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLSLALVTNS

Легкая цепь сатрализумаба (SEQ ID NO: 8)

DIQMTQSPSSLSASVGDSTITCQASTDISSHLNWYQQKPKAPE **ELLYY** GSHLLSGVPS  
 RFGSGSGTDFTFTISSLEAE **EDAATYY** CGQGNRLPYTFG **QGT** KVEIERTVAAPSVFIFPP  
 SDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNAL **SGNS** QESVTEQDSKSTYLSLSTLT  
 LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK **SFNR** GEC

Легенда по тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты

**EDTAVYY** и **TCNV** = сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 256 и 266)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

**ERKSCVECPPCAPPVAG** = Шарнирная область (SEQ ID NO: 163)

Легенда по легкой цепи:

CDR подчеркнуты

**ELLYY** и **EDAATYY** = сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 267 и 262)

QGT = сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

**Фиг. 3В КОНСТРУКЦИЯ FАВ IgG1 САРИЛУМАБА:**

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Тяжелая цепь сарилумаба (SEQ ID NO: 9)

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASRFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI **SWNS**GRIGY  
 ADSVKGRFTISRDNENSLFLQMNGLRAEDTALYYCAKGRDSFDIWG**QGT**MTVTVSSASTK  
 GPSVFFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV**SWNS**GALTSQVHTFPAVLQSSGLYS  
 LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKE**EPKSCD** +/- **KTHT** (или **KIHL**)+  
 /- **CPPCPA** +/- **PELLGGPSVFL**

**Линкер:** RKRR +/- GSG + (EGRGSLTCDVEENPGP или APVKQTLNFDLL KLAGDVESNPGP)  
 (SEQ ID NO: 129, 128, 133, 135; полноразмерные последовательности, описанные как SEQ ID NO:  
 142 и 144, соответственно)

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALSLALVTNS

Легкая цепь сарилумаба (SEQ ID NO: 10)

DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISWLAWYQOKPGKAPKLLTYGASSLESQVPS  
 RFGSGSGTDFTLTISSLQPEEDFASYYCOQANSEFYTFG**QGT**KLEIKRTVAAPSVFIFPP  
 SDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQ**SGNS**QESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT  
 LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK**SFN**RGEC

**Легенда по тяжелой цепи:**

CDR подчеркнуты

FTFDDYA и EDTALYY = сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 263 и 264)

QGT = сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)EPKSCDKIHTCPPCPPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 153)

или

EPKSCDKIHLCPPCPPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 154)**Легенда по легкой цепи:**

CDR подчеркнуты

EDFASY = сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 265)

QGT = сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

**Фиг. 3С КОНСТРУКЦИЯ FАВ IgG1 СИЛТУКСИМАБА:**

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIASLALVTNS

Тяжелая цепь силтуксимаба (SEQ ID NO: 11)

EVQLVESGGKLLKPGGSLKLSCAASGFTFSSFAMSWFRQSPDKRLEWVAEISSGGSYTY  
 PDTVTGRFTISRDNAKNTLYLEMSSLRSEDTAMYYCARGLWGYALDYWGQGTSVTVSSA  
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSSGALTSGVHTFPAVLQSSG  
 LYSLSVSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVKEPKSCD +/- KTHT (или KTH  
L) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL

Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLTTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)

(SEQ ID NO: 129, 128, 133, 135; полноразмерные последовательности, описанные как SEQ ID NO: 142 и 144, соответственно)

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIASLALVTNS

Легкая цепь силтуксимаба (SEQ ID NO: 12)

QIVLIQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWYQQKPGSSPRLLIYDTSNLAGSVPVR  
 FSGSGSGTSYSLTISRMEAEEDAATYYCCQWSGYPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS  
 DEQLKSGTASVIVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLL  
 SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**Легенда по тяжелой цепи:**

CDR подчеркнуты

EDTAMY = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 261)

QGT = сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 153)

или

EPKSCDKTHTLCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 154)**Легенда по легкой цепи:**

CDR подчеркнуты

EDAATY = сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 262)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

**Фиг. 3D КОНСТРУКЦИЯ FAB IgG1 клазакизумаба:**

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLSLALVTNS

Тяжелая цепь клазакизумаба (SEQ ID NO: 13)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSNYYVTWVRQAPGKGLEWVGI IYGSD EYAY  
 TSAIGRFTISRDN **SKN** TLYLQMNLSLRAE **DTAVYY** CARDSSDWD AKFNLWG **QGT** LVTVSS  
 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV **SWNS** GALTSGVHTFPAVLQSS  
 GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKRVE **PKSCD** +/- **KTHT** (или **KT**  
**HL**) +/- **CPPCPA** +/- **PELLGGPSVFL**

Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLTTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLL KLAGDVESNPGP)  
 (SEQ ID NO: 129, 128, 133, 135; полноразмерные последовательности, описанные как SEQ ID NO:  
 142 и 144, соответственно)

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLSLALVTNS

Легкая цепь клазакизумаба (SEQ ID NO: 14)

AIQMTQSPSSLSASVGRVTITCOASQ **SIN** NELSWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPS  
 RPSGSGSGTDFTLTITSSLP **DDFATYY** CQOQYSLRNIDNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI  
 FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ **SGN** SQESVTEQDSKDSYSLSS  
 TLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK **SFNR** GEC

Легенда по тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты

**EDTAVYY** = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 256)

QGT = сайт гликозилирования по глутамину (Q)

**(S/T)XN** = Некоנסенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)**EPKSCDKITHTCPPCPAPELLGG** = Шарнирная область (SEQ ID NO: 153)

или

**EPKSCDKITHTLCPAPELLGG** = Шарнирная область (SEQ ID NO: 154)

Легенда по легкой цепи:

CDR подчеркнуты

**DDFATYY** = сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 260)**(S/T)XN** = Некоנסенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

**Фиг. 3Е КОНСТРУКЦИЯ FАВ IgG1 сирукумаба:**

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLSLALVTNS

Тяжелая цепь сирукумаба (SEQ ID NO: 15)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTSPFAMSWVRQAPGKGLEWVAKISPGGGSWTTY  
 SDT~~VTGRFTTISRDN~~AKNSLYLQMN~~SLRAEDTAVYYCARQLWGY~~YALDIWGQGT~~TTVT~~VSSA  
 STKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG  
 LYSLSVSVTVPS~~SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK~~KVEPKSCD +/- *KTHT (или KTH*  
*L) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL*

Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLTTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)

(SEQ ID NO: 129, 128, 133, 135; полноразмерные последовательности, описанные как SEQ ID NO: 142 и 144, соответственно)

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLSLALVTNS

Легкая цепь сирукумаба (SEQ ID NO: 16)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASISVSYMYWYQQKPGQAPRLLIYDMSNLAGSIPAR  
 FSGSGSGTDFTLTIS~~SLEPEDFAVYYCMQWSGY~~PYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS  
 DEQLKSGTASVVC~~LLN~~NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK~~DK~~STYLSSTLTL  
 SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**Легенда по тяжелой цепи:**

CDR подчеркнуты

EDTAVYY = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 256)

QGT = сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 153)

или

EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 154)**Легенда по легкой цепи:**

CDR подчеркнуты

EDFAVYY = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 259)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

**Фиг. 3F КОНСТРУКЦИЯ FАВ IgG4 олокизумаба:**

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLSLALVTNS

Тяжелая цепь олокизумаба (SEQ ID NO: 17)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFDYFMNWVRQAPGKGLEWVAQMRNKNYQY  
 GTYYAESLEGRFTISRDD **SKNS**LYLQMN**SLKTE**DTAVVY**CARE**SYYGFTSYWG**QGT**LV  
 TVSSASTKGPVFPFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV**SWNS**GALTSQVHTFP  
 AVLQSSGLYSLSSVTVPS**SSLG**TKTY**TCNV**VDHKPSNTKVDKRV**ESKY** +/- **GPPCP**  
**PCPA** (или **GPPCPSCPA**) +/- **PEFLGG**PSVFL

Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)

(SEQ ID NO: 129, 128, 133, 135; полноразмерные последовательности, описанные как SEQ ID NO: 142 и 144, соответственно)

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLSLALVTNS

Легкая цепь олокизумаба (SEQ ID NO: 18)

DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCQASQDIGISLSWYQOKPGKAPKLLIYNANNLADGV  
 PSRFSGSGSGTDFTLTITSSLP**EDFATYYCL**QHNSAPYTF**GQGT**KLEIKRTVAAPSVF  
 IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNAL**SGNS**QESVTEQDSKDSSTYS  
 LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK**SFM**RGEC

**Легенда по тяжелой цепи:**

CDR подчеркнуты

**EDTAVVY** = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 256)

QGT = сайт гликозилирования по глутамину (Q)

**(S/T)XN** = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)**ESKYGPPCPSCPAPEFLGG** = Шарнирная область (SEQ ID NO: 165)

или

**ESKYGPPCPSCPAPEFLGG** = Шарнирная область (SEQ ID NO: 257)**Легенда по легкой цепи:**

CDR подчеркнуты

**EDFATYY** = сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 258)**(S/T)XN** = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

**Фиг. 3G КОНСТРУКЦИЯ FАВ IgG1 герилизумаба:**

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLSLALVTNS

Тяжелая цепь герилизумаба (SEQ ID NO: 19)

EVQLQESGPGPLVKPSQTLSTCTVSGGSITSRYYAWSWIRQPPGKGLEWIGVIDYDG  
 DTYYS~~PSL~~KSRVSI~~SWDT~~SKNQ~~PSL~~KLSSVTPADTAVYYCARDPDVVTGFHYDYWGQ  
 GTMVTVSSASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG  
 VHTFPFVAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD  
 +/- KTHT (или KTHL) +/- CPPCPA +/- PELLGGPSVFL

Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLTTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)

(SEQ ID NO: 129, 128, 133, 135; полноразмерные последовательности, описанные как SEQ ID NO: 142 и 144, соответственно)

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLSLALVTNS

Легкая цепь герилизумаба (SEQ ID NO: 20)

QSALTQPPSVSGTTPGQSVTISCAGANNDIGTYAYVSWYQQLPGTAPKLMYKVTRA  
 SGIPDRFSGSKSGNTIASLTI~~SGLQA~~EDEADYYCASYRNFNNAVFGTGKLTVLGQPK  
 AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQ  
 SNNKYAASSYLSLTPEQWKS~~HR~~SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Легенда по тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты

DTAVYY = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 253)

QGT = сайт гликозилирования по глутамину (Q)

(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 153)

или

EPKSCDKTHLCPAPELLGG = Шарнирная область (SEQ ID NO: 154)

Легенда по легкой цепи:

CDR подчеркнуты

EDEADY = сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 255)(S/T)XN = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

**Фиг. 3Н КОНСТРУКЦИЯ FАВ IgG1 тоцилизумаба:**

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLALVTNS

Тяжелая цепь тоцилизумаба (SEQ ID NO: 21)

QVQLQESGPGLVLRPSQTLSTCTVSGYSITSDHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGIT**T**  
**YNP**SLKSRVTMLRDT **SKN**QFSLRRLSSVTAAD**DTAVYY**CARSLARTTAMDYWGQGSIVTVS  
 SASTKGPSVFFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV**SWNS**GALTSGVHTFPAVLQ  
 SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK**KEPKSCD** +/- **KTHT** (или  
**KTHL**) +/- **CPPCPA** +/- **PELLGGPSVFL**

Линкер: RKRR +/- GSG + (EGRGSLTTCGDVEENPGP или APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP)

(SEQ ID NO: 129, 128, 133, 135; полноразмерные последовательности, описанные как SEQ ID NO: 142 и 144, соответственно)

Лидер (SEQ ID NO: 85)

MYRMQLLLLIALLALVTNS

Легкая цепь тоцилизумаба (SEQ ID NO: 22)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISSYLNWYQOKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVP  
 SRFSGSGSGTDFTFTISSLQ**PE**DIATYYCQ**Q**GN**T**LPYTF**QGT**KVEIKRTVAAPSVFIF  
 PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ**SGNS**QESVTEQDSK**D**STYSLSS  
 TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK**SFN**R**G**EC

Легенда по тяжелой цепи:

CDR подчеркнуты

**DTAVYY** = сайт Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 253)**(S/T)XN** = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)**EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG** = Шарнирная область (SEQ ID NO: 153)

или

**EPKSCDKTHLCPAPPELLGG** = Шарнирная область (SEQ ID NO: 154)

Легенда по легкой цепи:

CDR подчеркнуты

**EDIATYY** = сайты Y-сульфатирования (SEQ ID NO: 254)**QGT** = сайт гликозилирования по глутамину (Q)**(S/T)XN** = Неконсенсусный сайт гликозилирования по аспарагину (N)

AAV1	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
AAV2	MAADGYLPDWLEDTLSEGI	RQWWKLPKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
AAV3	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWALKPGVPQPKANQQHQDNRRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
AAV3-3	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWALKPGVPQPKANQQHQDNRRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
AAV3B	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWALKPGVPQPKANQQHQDNRRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
AAV4	-MTDGYLPDWLEDNLSEGI	REWWALQPGAPKPKANQQHQDNARGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	59
AAV4-4	-MTDGYLPDWLEDNLSEGI	REWWALQPGAPKPKANQQHQDNARGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	59
AAV5	MSFVDHFPDWLEE-VGEGL	REFLGLGAGPPKPKPNQQHQDQARGLVLP	PGYNYLGPFGNGLD	59
AAV6	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
AAV7	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWDLKPGAPKPKANQQKQDNRRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
AAV8	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWALKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
AAV9	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWALKPGAPQPKANQQHQDNARGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
AAV9e	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWALKPGAPQPKANQQHQDNARGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
rh.10	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
rh.20	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
rh.39	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWALKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
rh.73	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
rh.74v1	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWDLKPGAPKPKANQQKQDNRRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
rh.74v2	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWDLKPGAPKPKANQQKQDNRRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
hu.12	MAADGYLPDWLEDTLSEGI	RQWWKLPKPGPPPKPAERHQDDSRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
hu.21	MAADGYLPDWLEDTLSEGI	RQWWKLPKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
hu.26	MAADGYLPDWLEDTLSEGI	RQWWKLPKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
hu.37	MAADGYLPDWLEDNLSEGI	REWWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
hu.51	MAADGYLPDWLEDTLSEGI	RQWWKLPKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60
hu.53	MAADGYLPDWLEDTLSEGI	RQWWKLPKPGPPPKPAERHKDDSRGLVLP	PGYKYLGPFGNGLD	60

.: \*\*\*\*\* :.\*\*:\*: \* : \* \* \* \* :\*:\*: \*\*\*\*\*:\*\*\*\* \*

Фиг. 4 (продолжение)

AAV1	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV2	KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV3	KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV3-3	KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV3B	KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV4	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	119
AAV4-4	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	119
AAV5	RGEPVNRADAVAREHDI SYNEQLEAGDNPYLKYNHADAEFQEKLADDTSFGGNLGKAVFQ	119
AAV6	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV7	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV8	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLQAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV9	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV9e	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
rh.10	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
rh.20	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
rh.39	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
rh.73	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
rh.74v1	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLQAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
rh.74v2	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLQAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
hu.12	KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
hu.21	KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
hu.26	KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
hu.37	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAEFQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
hu.51	KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
hu.53	KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV1	AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS	179
AAV2	AKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPV-EPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA	179
AAV3	AKKRILEPLGLVEEAAKTAPGKKGAVDQSPQ-EPDSSSGVVGKSGKQPARKRLNFGQTGDS	179
AAV3-3	AKKRILEPLGLVEEAAKTAPGKKGAVDQSPQ-EPDSSSGVVGKSGKQPARKRLNFGQTGDS	179
AAV3B	AKKRILEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVDQSPQ-EPDSSSGVVGKSGKQPARKRLNFGQTGDS	179
AAV4	AKKRVLEPLGLVEQAGETAPGKKRPLIESPQ-QPDSSTGIGKKGKQPAKKKLVEFEDTGA	178
AAV4-4	AKKRVLEPLGLVEQAGETAPGKKRPLIESPQ-QPDSSTGIGKKGKQPAKKKLVEFEDTGA	178
AAV5	AKKRVLEPFGLVEEGAKTAPTGKRIDDHFPKRRKARTEEDSKP-----STSSDA	168
AAV6	AKKRVLEPFGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS	179
AAV7	AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPAKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS	180
AAV8	AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS	180
AAV9	AKKRILEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSAGIGKSGAQPAKKRLNFGQTGDT	179
AAV9e	AKKRILEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSAGIGKSGAQPAKKRLNFGQTGDT	179
rh.10	AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS	180
rh.20	AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS	180
rh.39	AKKRVLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS	180
rh.73	AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS	180
rh.74v1	AKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS	180
rh.74v2	AKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS	180
hu.12	AKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPV-EPDSSSGTGKAGHQPARKRLNFGQTGDA	179
hu.21	AKKRILEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPA-EPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA	179
hu.26	AKKRILEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPA-EPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA	179
hu.37	AKKRVLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS	180
hu.51	AKKRVLEPLGLVGEPEVKTAPGKKRPVEHSPV-EPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA	179
hu.53	AKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPA-EPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA	179
	****:****:****. :**** * * . : .*	..

Фиг. 4 (продолжение)

AAV1	ESVP-DPQPLGEPATPAAVGPTTMAASGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDR	238
AAV2	DSVP-DPQPLGQPPAAPSGLGTNTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	238
AAV3	ESVP-DPQPLGEPAAPTSLGSNTMASGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	238
AAV3-3	ESVP-DPQPLGEPAAPTSLGSNTMASGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	238
AAV3B	ESVP-DPQPLGEPAAPTSLGSNTMASGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	238
AAV4	GDGP----PEGSTSGAMS--DDSEMRAAAGGAAVEGGQADGVGNASGDWHCDSTWSEGH	232
AAV4-4	GDGP----PEGSTSGAMS--DDSEMRAAAGGAAVEGGQADGVGNASGDWHCDSTWSEGH	232
AAV5	EAGPSGSQQLQIPAPASSLGDSTMAAGGGPFLGDNNQADGVGNASGDWHCDSTWVGDR	228
AAV6	ESVP-DPQPLGEPATPAAVGPTTMAASGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDR	238
AAV7	ESVP-DPQPLGEPAAAPSSVSGTVAAGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWHCDSTWLGDR	239
AAV8	ESVP-DPQPLGEPAAAPSGVGPNTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWLGDR	239
AAV9	ESVP-DPQPIGEPAAAPSGVGSITMAASGGGAPVADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	238
AAV9e	ESVP-DPQPIGEPAAAPSGVGSITMAASGGGAPVADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	238
rh.10	ESVP-DPQPIGEPAPGSPGLGSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	239
rh.20	ESVP-DPQPIGEPAPGSPGLGSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	239
rh.39	ESVP-DPQPIGEPAPGSPGLGSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	239
rh.73	ESVP-DPQPLGEPAAAPSSVSGTVAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	239
rh.74v1	ESVP-DPQPIGEPAPGSPGLGSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	239
rh.74v2	ESVP-DPQPIGEPAPGSPGLGSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	239
hu.12	DSVP-DPQPLGQPPAAPSTSLGTTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	238
hu.21	DSVP-DPQPLGQPPAAPSTSLGTTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	238
hu.26	DSVP-DPQPLGQPPAAPSTSLGTTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	238
hu.37	ESVP-DPQPIGEPAPGSPGLGSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	239
hu.51	DSVP-DPQPLGQPPAAPSTSLGTTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	238
hu.53	DSVP-DPQPLRQPPAAPSTSLGTTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWVGDR	238
	* : . : :..* . :..:*****:***:***** * ..	
AAV1	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	297
AAV2	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISSQ-S-GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	296
AAV3	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISSQ-S-GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	296
AAV3-3	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISSQ-S-GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	296
AAV3B	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISSQ-S-GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	296
AAV4	VTTSTRTWLPTYNNHLYKRLGE-----SLQSNTYNGFSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	287
AAV4-4	VTTSTRTWLPTYNNHLYKRLGE-----SLQSNTYNGFSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	287
AAV5	VVKSTRTWLPSYNNHLYREIKSGSVD-GSNANAYFGYSTPWGYFDFNRFHSHWSPRDW	287
AAV6	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	297
AAV7	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISSETA-GSTNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	298
AAV8	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGATNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	299
AAV9	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	298
AAV9e	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISNSTSGGSSNDNAYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	298
rh.10	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	299
rh.20	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	299
rh.39	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	299
rh.73	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	299
rh.74v1	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	299
rh.74v2	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	299
hu.12	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	296
hu.21	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	296
hu.26	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	296
hu.37	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISNCTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	299
hu.51	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	296
hu.53	VITSTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDW	296
	* * .*****:***:***** *.: . : * * * :*****:***** * :*****	

Фиг. 4 (продолжение)

AAV1	QRLINNNWGF	RPKRLNFKLF	FNIQVKEVT	TNDGVTTI	ANNLTSTV	QVFS	DS	SEYQLP	PYVLGS	357			
AAV2	QRLINNNWGF	RPKRLNFKLF	FNIQVKEVT	QNDGTTT	IANNLTST	VQVFTD	SEYQLP	PYVLGS	356				
AAV3	QRLINNNWGF	RPKKLSFKLF	FNIQVRGVT	QNDGTTT	IANNLTST	VQVFTD	SEYQLP	PYVLGS	356				
AAV3-3	QRLINNNWGF	RPKKLSFKLF	FNIQVRGVT	QNDGTTT	IANNLTST	VQVFTD	SEYQLP	PYVLGS	356				
AAV3B	QRLINNNWGF	RPKKLSFKLF	FNIQVKEVT	QNDGTTT	IANNLTST	VQVFTD	SEYQLP	PYVLGS	356				
AAV4	QRLINNNWGM	RPKAMRVK	IFNIQVKEVT	TNGETTV	ANNLTSTV	QIFAD	SS	YELPYV	MDA	347			
AAV4-4	QRLINNNWGM	RPKAMRVK	IFNIQVKEVT	TNGETTV	ANNLTSTV	QIFAD	SS	YELPYV	MDA	347			
AAV5	QRLINNNWGF	RPKRLRVK	IFNIQVKEVT	QDSTTTT	IANNLTST	VQVFTD	DD	YQLP	VVGN	347			
AAV6	QRLINNNWGF	RPKRLNFKLF	FNIQVKEVT	TNDGVTTI	ANNLTSTV	QVFS	DS	SEYQLP	PYVLGS	357			
AAV7	QRLINNNWGF	RPKKLRFKLF	FNIQVKEVT	TNDGVTTI	ANNLTSTI	QVFS	DS	SEYQLP	PYVLGS	358			
AAV8	QRLINNNWGF	RPKRLSFKLF	FNIQVKEVT	QNEGT	KTIANNLTSTI	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	359				
AAV9	QRLINNNWGF	RPKRLNFKLF	FNIQVKEVT	DNNGVKT	IANNLTSTV	QVFTD	SD	YQLP	PYVLGS	358			
AAV9e	QRLINNNWGF	RPKRLNFKLF	FNIQVKEVT	DNNGVKT	IANNLTSTV	QVFTD	SD	YQLP	PYVLGS	358			
rh.10	QRLINNNWGF	RPKRLNFKLF	FNIQVKEVT	QNEGT	KTIANNLTSTI	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	359				
rh.20	QRLINNNWGF	RPKRLNFKLF	FNIQVKEVT	QNEGT	KTIANNLTSTI	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	359				
rh.39	QRLINNNWGF	RPKRLSFKLF	FNIQVKEVT	QNEGT	KTIANNLTSTI	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	359				
rh.73	QRLINNNWGF	RPKRLSFKLF	FNIQVKEVT	QNEGT	KTIANNLTSTI	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	359				
rh.74v1	QRLINNNWGF	RPKRLNFKLF	FNIQVKEVT	QNEGT	KTIANNLTSTI	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	359				
rh.74v2	QRLINNNWGF	RPKRLNFKLF	FNIQVKEVT	QNEGT	KTIANNLTSTI	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	359				
hu.12	QRLINNNWGF	RPKRLNFKLF	FNIQVKEVT	QNDGTTT	IANNLTSTV	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	359				
hu.21	QRLINNNWGF	RPKRLSFKLF	FNIQVKEVT	QNDGTTT	IANNLTSTV	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	356				
hu.26	QRLINNNWGF	RPKRLSFKLF	FNIQVKEVT	QNDGTTT	IANNLTSTV	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	356				
hu.37	QRLINNNWGF	RPKRLSFKLF	FNIQVKEVT	QNEGT	KTIANNLTSTI	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	359				
hu.51	QRLINNNWGF	RPKRLNFKLF	FNIQVKEVT	QNDGTTT	IANNLTSTV	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	356				
hu.53	QRLINNNWGF	RPKRLNFKLF	FNIQVKEVT	QNDGTTT	IANNLTSTV	QVFTD	SEYQLP	PYVLGS	356				
	***** **:**: . .:*:**:** ** .. .*:**:**:**:**:**:**:**:**:**:**												
AAV1	AHQGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	NFTFSY	414			
AAV2	AHQGCLPPFP	ADVFMV	PQYGYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	NFTFSY	413			
AAV3	AHQGCLPPFP	ADVFMV	PQYGYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FQFSY	413			
AAV3-3	AHQGCLPPFP	ADVFMV	PQYGYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FQFSY	413			
AAV3B	AHQGCLPPFP	ADVFMV	PQYGYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FQFSY	413			
AAV4	GQEGSLPPFP	PNDVFMV	PQYGYCGLVTGNT	---	SQOQTD	RN	AFYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FEITY	407		
AAV4-4	GQEGSLPPFP	PNDVFMV	PQYGYCGLVTGNT	---	SQOQTD	RN	AFYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FEITY	407		
AAV5	GTEGCLPA	FP	PQVFTLPQY	GATLNR	DNT	-ENPT	ERS	S	FFCLEY	FPSKMLR	RTGNN	FEITY	406
AAV6	AHQGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	NFTFSY	414			
AAV7	AHQGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNNG	---	SQSVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FEFSY	415			
AAV8	AHQGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FQFTY	416			
AAV9	AHEGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNDG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FQFSY	415			
AAV9e	AHEGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNDG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FQFSY	415			
rh.10	AHQGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FEFSY	416			
rh.20	AHQGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FEFSY	416			
rh.39	AHQGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FEFSY	416			
rh.73	AHQGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FEFSY	416			
rh.74v1	AHQGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FEFSY	416			
rh.74v2	AHQGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FEFSY	416			
hu.12	AHQGCLPPFP	ADVFMV	PQYGYLTLNNG	---	SQAVGRPS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	NFTFSY	413			
hu.21	AHQGCLPPFP	ADVFMV	PQYGYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	NFTFSY	413			
hu.26	AHQGCLPPFP	ADVFMV	PQYGYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	NFTFSY	413			
hu.37	AHQGCLPPFP	ADVFMIPQY	GYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FEFSY	416			
hu.51	AHQGCLPPFP	ADVFMV	PQYGYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	NFTFSY	413			
hu.53	AHQGCLPPFP	ADVFMV	PQYGYLTLNNG	---	SQAVGRSS	FYCLEY	FPSQMLR	RTGNN	FQFSY	413			
	. :*.* ** ** :** :***** * . .: . *.*:**:**:**:**:**:**:**:**:**:**												

Фиг. 4 (продолжение)

AAV1	TPEEVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQ-NQSGSAQNKDLLFSRGSAPGMSV	473
AAV2	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTN-TPSGTTTQSRLOFSQAGASDIRD	472
AAV3	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQGTTSGTTNQSRLLFSSQAGPQSMMSL	473
AAV3-3	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQGTTSGTTNQSRLLFSSQAGPQSMMSL	473
AAV3B	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQGTTSGTTNQSRLLFSSQAGPQSMMSL	473
AAV4	SFEKVFFHSMYAHSQSLDRLMNPLIDQYLWGLQSTTTGTTLNAGTATTNFTKLRPTNFSN	467
AAV4-4	SFEKVFFHSMYAHSQSLDRLMNPLIDQYLWGLQSTTTGTTLNAGTATTNFTKLRPTNFSN	467
AAV5	NFEEVFFHSSYAFPSQNLFLANPLVDQYLYRFVSTNNTG-----GVQFNKNLAGRYAN	459
AAV6	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQ-NQSGSAQNKDLLFSRGSAPGMSV	473
AAV7	SFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLARTQSNPGGTAGNRELQFYQGGPSTMAE	475
AAV8	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQT-TGGTANTQTLGFSQGGPNTMAN	475
AAV9	EFENVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSKTINGS--GQNCQTLKFSVAGPSNMAV	473
AAV9e	EFENVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSKTINGS--GQNCQTLKFSVAGPSNMAV	473
rh.10	QFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQS-TGGTACTQQLLFSQAGPNNMSA	475
rh.20	QFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQS-TGGTACTQQLLFSQAGPNNMSA	475
rh.39	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQS-TGGTQGTQQLLFSQAGPANMSA	475
rh73	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQS-TGGTACTQQLLFSQAGPNNMSA	475
rh.74v1	NFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQS-TGGTACTQQLLFSQAGPNNMSA	475
rh.74v2	NFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQS-TGGTACTQQLLFSQAGPNNMSA	475
hu.12	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQS-NSGTLQOSRLLFSQAGPMSMSL	472
hu.21	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTN-TPSGTTTMSRLQFSQAGASDIRD	472
hu.26	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTN-TPSGTTTMSRLQFSQAGASDIRD	472
hu.37	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTQS-TGGTQGTQQLLFSQAGPANMSA	475
hu.51	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTN-TPSGTTTQSRLOFSQAGASDIRD	472
hu.53	TFEDVFFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLNRTQ-TASGTC-QSRLLFSSQAGPMSMSL	471

\*\*.\*\*\*\*\* : \* \*\*.\* : \* \*\*.\*:\*\*\*\*: : \*

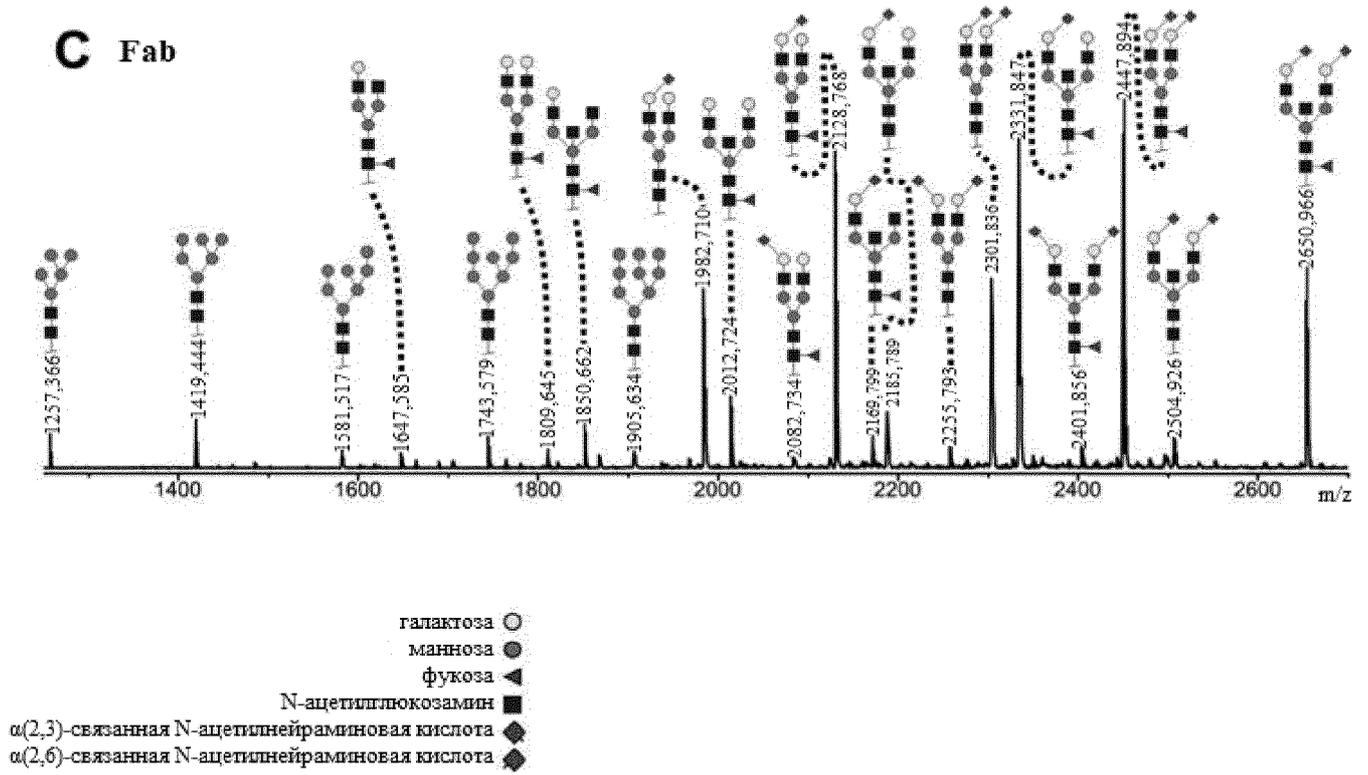
AAV1	QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNNSNF-----TWTGASKYNLNGRESIINPGTAMASHK	528
AAV2	QSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSSEY-----SWTGATKYHLNGRDLSLVNPGPAMASHK	527
AAV3	QARNWLPGPCYRQQRLSKTDANDNNNSNF-----PWTAAASKYHLNGRDLSLVNPGPAMASHK	528
AAV3-3	QARNWLPGPCYRQQRLSKTDANDNNNSNF-----PWTAAASKYHLNGRDLSLVNPGPAMASHK	528
AAV3B	QARNWLPGPCYRQQRLSKTDANDNNNSNF-----PWTAAASKYHLNGRDLSLVNPGPAMASHK	528
AAV4	FKKNWLPGPSIKQQGFSKTANQNYKIPATGSDSLIKYETHSTLDGRWSALTPGPPMATAG	527
AAV4-4	FKKNWLPGPSIKQQGFSKTANQNYKIPATGSDSLIKYETHSTLDGRWSALTPGPPMATAG	527
AAV5	TYKNWFFPGMGRTOGWNLGSGVNRASVS-----AFATTNRMELEGASYQVFPQPNGMTNN	514
AAV6	QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTDNNNSNF-----TWTGASKYNLNGRESIINPGTAMASHK	528
AAV7	QAKNWLPGPCFRQQRVSKTLDQNNNSNF-----AWTGATKYHLNGRNSLVNPGVAMATHK	530
AAV8	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTTGQNNNSNF-----AWTAGTKYHLNGRNSLANPGIAMATHK	530
AAV9	QGRNYIPGPSYRQQRVSTTTVTQNNNSSEF-----AWPGASSWALNGRNSLMNPGPAMASHK	528
AAV9e	QGRNYIPGPSYRQQRVSTTTVTQNNNSSEF-----AWPGASSWALNGRNSLMNPGPAMASHK	528
rh.10	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTTLSQNNNSNF-----AWTGATKYHLNGRDLSLVNPGVAMATHK	530
rh.20	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTTLSQNNNSNF-----AWTGATKYHLNGRDLSLVNPGVAMATHK	530
rh.39	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTTLSQNNNSNF-----AWTGATKYHLNGRDLSLVNPGVAMATHK	530
rh.73	QARNWLPGPCYRQQRVSTTTLSQNNNSNF-----AWTGATKYHLNGRDLSLVNPGVAMATNK	530
rh.74v1	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTTLSQNNNSNF-----AWTGATKYHLNGRDLSLVNPGVAMATHK	530
rh.74v2	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTTLSQNNNSNF-----AWTGATKYHLNGRDLSLVNPGVAMATHK	530
hu.12	QAKNWLPGPCYRQQRLSKQANDNNNSNF-----PWTAAATKYHLNGRDLSLVNPGPAMASHK	527
hu.21	QSRNWLPGPCYRQQRVSKTAADNNNSDY-----SWTGATKYHLNGRDLSLVNPGPAMASHK	527
hu.26	QSRNWLPGPCYRQQRVSKTAADNNNSDY-----SWTGATKYHLNGRDLSLVNPGPAMASHK	527
hu.37	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTTLSQNNNSNF-----AWTGATKYHLNGRDLSLVNPGVAMATHK	530
hu.51	QSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSSEY-----SWTGATKYHLNGRDLSLVNPGPAMASHK	527
hu.53	QAKNWLPGPCYRQQRLSKQANDNNNSNF-----PWTGATKYHLNGRDLSLVNPGPAMASHK	526

\*\*\*:\*\*\* : \* . \* \* \* \* \* \* \* \* \*



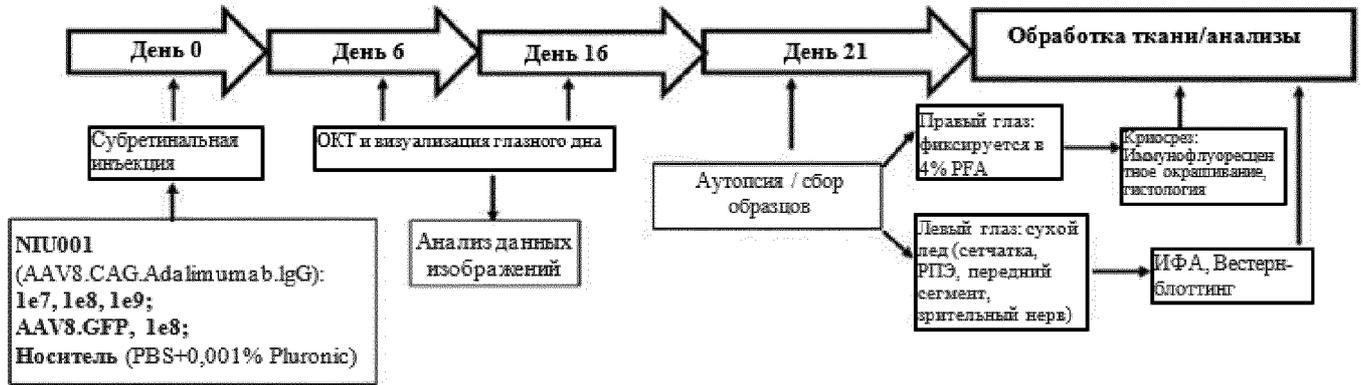


Фиг. 5



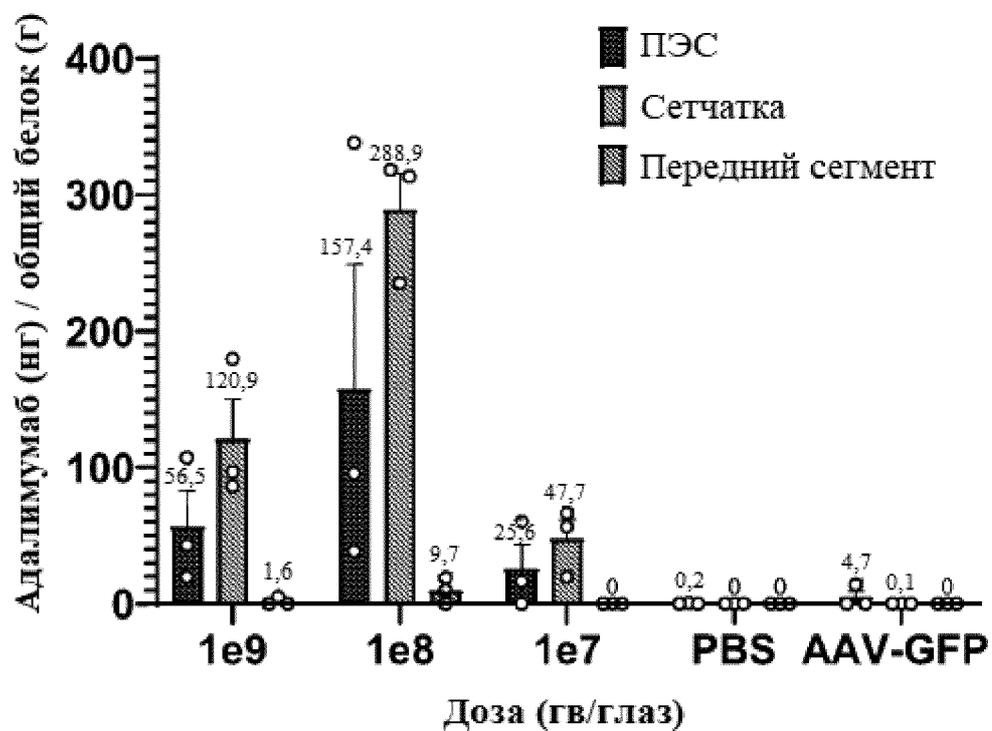


Фиг. 7

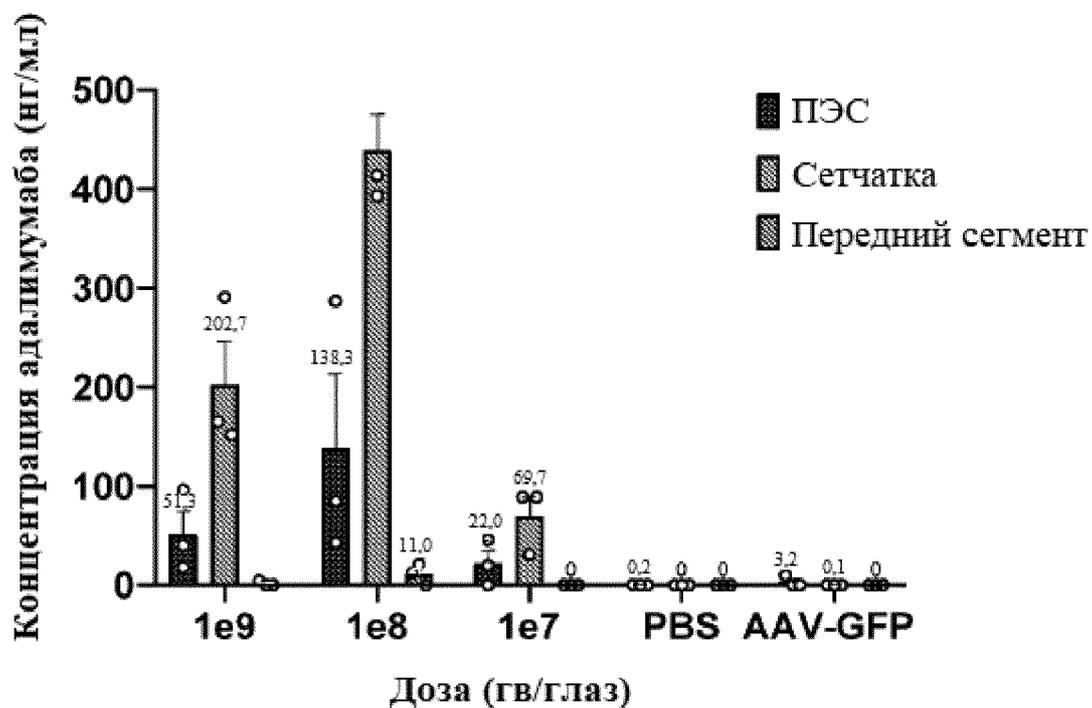


Фиг. 8А и 8В

Фиг. 8А



Фиг. 8В



## Фиг. 9А

Адалпумаб	---EVQLVESGGGLVQFGRSLRLSCAASGFTFDDY--AMHWVRQAPGKGLEWVSAITWN-	54
Инфликсимаб	---EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSVVASGFIFSNH--WMNWVRQSPKGLEWVAEIRSKS	55
Голнумаб	SKLQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSY--AMHWVRQAPGNGLWVAFMSYD-	57
Сатрализумаб	---QVQLQESGPGFLVKPSETLSLTCVSGHSISH-DHAWSWVRQPPGEGLEWIGFISYSG	56
Сарилумаб	---EVQLVESGGGLVQFGRSLRLSCAASRFTFDDY--AMHWVRQAPGKGLEWVSGISWN-	54
Силтуксимаб	---EVQLVESGGKLLKPGGSLKLSAASGFTFSSP--AMSWFRQSPKRLWVAEISSG-	54
Клазаксумаб	--EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSNY--YVTWVRQAPGKGLEWVGIIYGS-	54
Сирукумаб	---EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPF--AMSWVRQAPGKGLEWVAKISPC-	54
Олоксумаб	---EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFNDY--FMNWVRQAPGKGLEWVAQMRKN	55
Герилизумаб	---EVQLQESGPGFLVKPSQTLSTCTVSGGSIISRYYAWSWIRQPPGKLEWIGVIDY--	55
Тоцилизумаб	---QVQLQESGPGFLVRFPSQTLSTCTVSGYSITS-DHAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSG	57
Адалпумаб	-SGHIDYADSVGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLS---TA-----	105
Инфликсимаб	INSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAVYLMQMDLRTEDTGVYYCSRNYG-----	104
Голнумаб	-GSNKKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIA---AGGNYYY	113
Сатрализумаб	I-TN--YNPQLQGRVTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSLART---T-----	104
Сарилумаб	-SGRIGYADSVKGRFTISRDNANSLFLQMNGLRAEDTALYYCAK-----R-----	100
Силтуксимаб	-GSYTYYPDTVTGRFTISRDNAKNTLYLEMSSLRSEDTAMYCCARGLWGY-----	103
Клазаксумаб	--DETAYATSAIGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSSDWD-----	104
Сирукумаб	-GSWTFYYSDTVTGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLWGY-----	103
Олоксумаб	YQGTYYAESLEGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEEDTAVYYCARESY-----	104
Герилизумаб	-DGDYYSPLKSRVSIWDTSKNQFSLKLSVTPADTAVYYCARDPDVVTG-----	106
Тоцилизумаб	---ITTYNPSLKSRTMLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARSLART-----	104
<b>N</b>		
Адалпумаб	SSLDYWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG	165
Инфликсимаб	STYDYWGQGTITLVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG	164
Голнумаб	YGMDEVWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG	173
Сатрализумаб	-AMDYWGEGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG	163
Сарилумаб	DSFDIWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG	160
Силтуксимаб	YALDYWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG	163
Клазаксумаб	AKFNLWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG	164
Сирукумаб	YALDIWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG	163
Олоксумаб	GFTSYWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG	164
Герилизумаб	FHYDYWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG	166
Тоцилизумаб	TAMDYWGQGSIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG	164
Адалпумаб	ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTRKVDKKVE	220
Инфликсимаб	ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTRKVDKKVE	219
Голнумаб	ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTRKVDKKVE	228
Сатрализумаб	ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSVVTVPSSNFGTQTYICNVNHHKPSNTRKVDKIVE	218
Сарилумаб	ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTRKVDKKVE	215
Силтуксимаб	ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTRKVDKKVE	218
Клазаксумаб	ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTRKVDKIVE	219
Сирукумаб	ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTRKVDKIVE	218
Олоксумаб	ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTRKVDKIVE	219
Герилизумаб	ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTRKVDKKVE	221
Тоцилизумаб	ALTSGVHTFPAV-----LQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTRKVDKKVE	219

Фиг. 9А (продолжение)

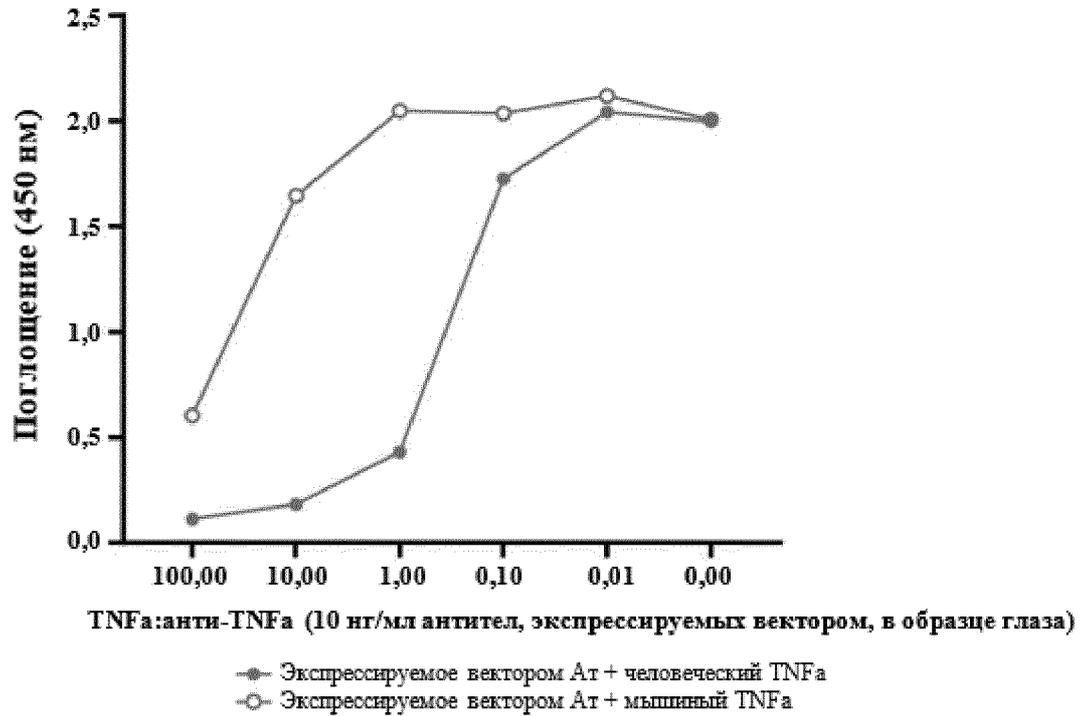
АдалIMUMaб	PKSCDKTHT	229
ИHFликCИMаб	PKSCDKTHT	228
ГолИMумaб	PKSCDKTHT	237
СaтpaлизуMаб	RKSCVE---	224
СaрилуMаб	PKSCDKTHT	224
СилтукCИMаб	PKSCDKTHT	227
КлaзакИзуMаб	PKSCDKTHT	228
СИрукуMаб	PKSCDKTHT	227
ОлокИзуMаб	SKYGFP---	224
ГерИлизуMаб	PKSCDKTHT	230
ТоцилизуMаб	PKSCDKTHT	228

Фиг. 9B

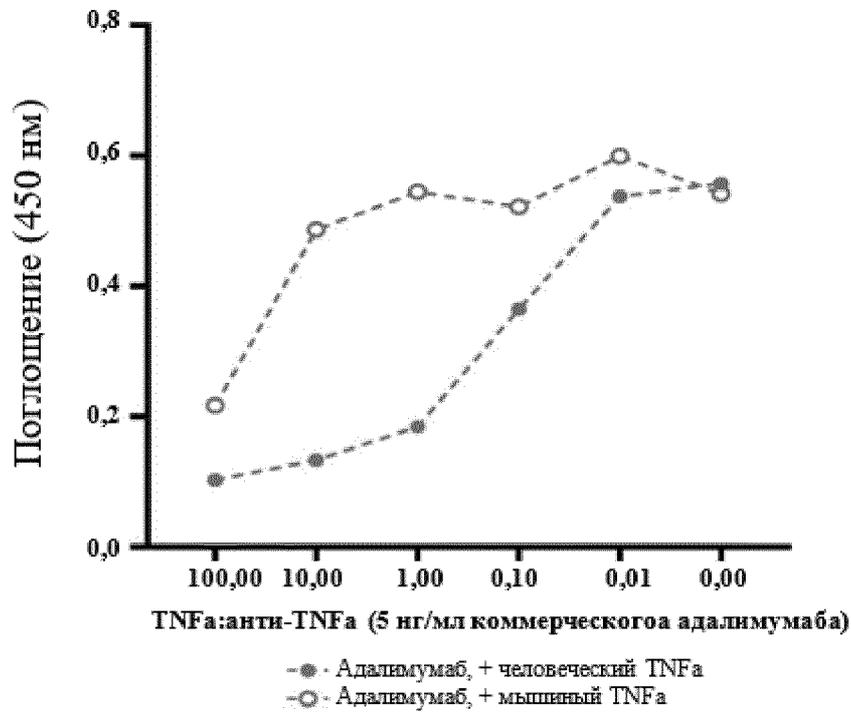
Адалимумаб	---DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQG-----IRNYLAWYQKPKGKAPKLLIYA-	50
Инфликсимаб	---DILLTQSPAILSVSPGERVSPFCRASQFVG-----SSIHWYQQRNNGSPRLLIKY-	50
Голimumаб	AGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSV-----YSYLAWYQKPKGKAPRLLIYD-	53
Сатрализумаб	---DIQMTQSPSSLSASVGDVSVTITCQASTD-----ISSHLNWXQKPKGKAPPELLIYY-	50
Сарилумаб	---DIQMTQSPSSVSVASVGDVRTITCRASQG-----ISSWLAWYQKPKGKAPKLLIYG-	50
Силтуксимаб	---QIVLIQSPAIMSASPGKVTMTCSASSSVS-----YMYWYQKPKGSSPRLLIYD-	49
Клазаксумаб	---AIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQASQSI-----NNELSWYQKPKGKAPKLLIYR-	50
Сирукумаб	---EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASISVS-----YMYWYQKPKGKAPRLLIYD-	49
Олоксумаб	---DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQASQDIG----IS--LSWYQKPKGKAPKLLIYN-	50
Гернилизумаб	---QSALT-QPPSVSGTTPGQSVTISCAGANNDIG---TYAYVSWYQQLPGTAPKL-MI--	50
Тоцилизумаб	---DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQDI-----SSYLNWYQKPKGKAPKLLIYY-	50
Адалимумаб	---ASTLQSGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRY-NR---APYTFGGG	101
Инфликсимаб	---ASEMSGIPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNSH-----WPFTFGSG	101
Голimumаб	---ASNRTGIPARFSGSGS--GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNSW---PPFTFGPG	105
Сатрализумаб	---GSHLLSGVPSRFSGSGS--GTDFTFTISSLAEADAATYYCQOG-NR---LPYTFGGG	101
Сарилумаб	---ASSLESGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFASYYCQQA-NS---FPYTFGGG	101
Силтуксимаб	---TSNLASGVPSRFSGSGS--GTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQWSG----YPYTFGGG	100
Клазаксумаб	---ASTLASGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYSLR-NIDNAFCGG	104
Сирукумаб	---MSNLASGIPARFSGSGS--GTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWSG----YPYTFGGG	100
Олоксумаб	---ANNLADGVPSRFSGSGS--GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQLQH-NS---APYTFGGG	101
Гернилизумаб	---YKVTTRASGIPDRFSGSKSGNTASLTIISGLQAEDEADYYCASYRNF---NNAVFGTG	104
Тоцилизумаб	---TSRLHSGVPSRFSGSGS--GTDFTFTISSLQPEDIATYYCQOG-NT---LPYTFGGG	101
	<b>S/N</b>	
Адалимумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Инфликсимаб	TNLEVK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Голimumаб	TKVDIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	164
Сатрализумаб	TKVEIE-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Сарилумаб	TKLEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Силтуксимаб	TKLEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	159
Клазаксумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	164
Сирукумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	159
Олоксумаб	TKLEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
Гернилизумаб	TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV-	163
Тоцилизумаб	TKVEIK-RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ	160
	<b>N</b>	
Адалимумаб	ESVTEQDSKDSYSLSSSTLFLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-	214
Инфликсимаб	ESVTEQDSKDSYSLSSSTLFLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-	214
Голimumаб	ESVTEQDSKDSYSLSSSTLFLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-	218
Сатрализумаб	ESVTEQDSKDSYSLSSSTLFLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-	214
Сарилумаб	ESVTEQDSKDSYSLSSSTLFLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-	214
Силтуксимаб	ESVTEQDSKDSYSLSSSTLFLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-	213
Клазаксумаб	ESVTEQDSKDSYSLSSSTLFLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-	218
Сирукумаб	ESVTEQDSKDSYSLSSSTLFLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-	213
Олоксумаб	ESVTEQDSKDSYSLSSSTLFLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-	214
Гернилизумаб	ETTFPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGS--TVEKTVAPTECS	216
Тоцилизумаб	ESVTEQDSKDSYSLSSSTLFLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-	214

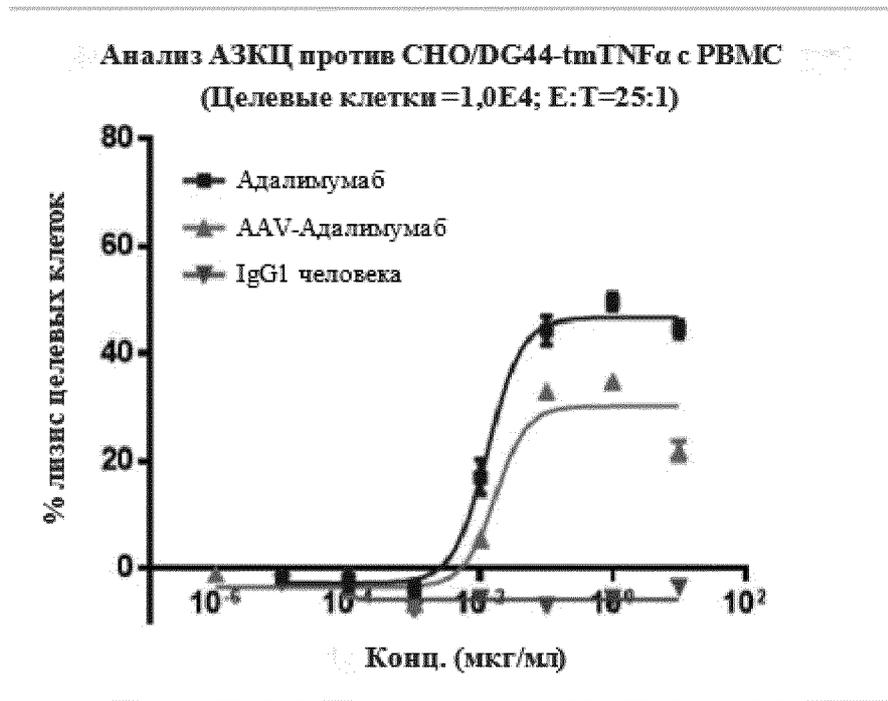
Фиг. 10А и 10В

Фиг. 10А

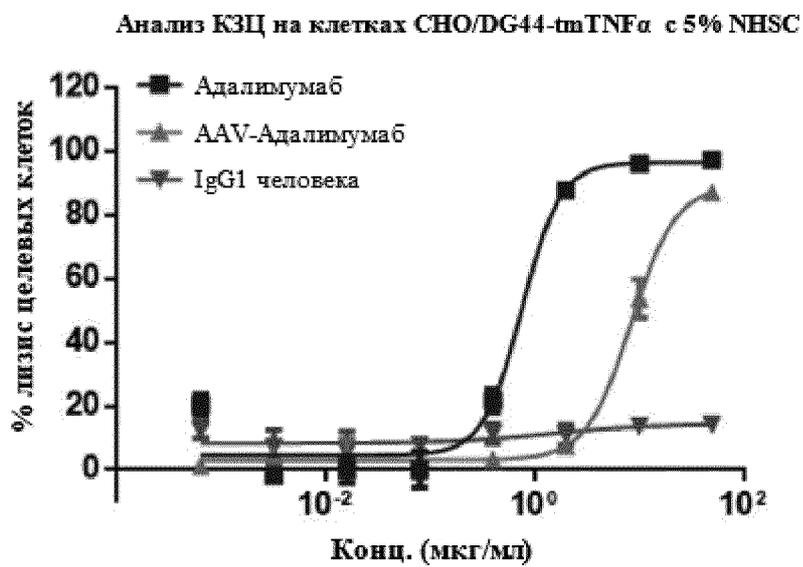


Фиг. 10В



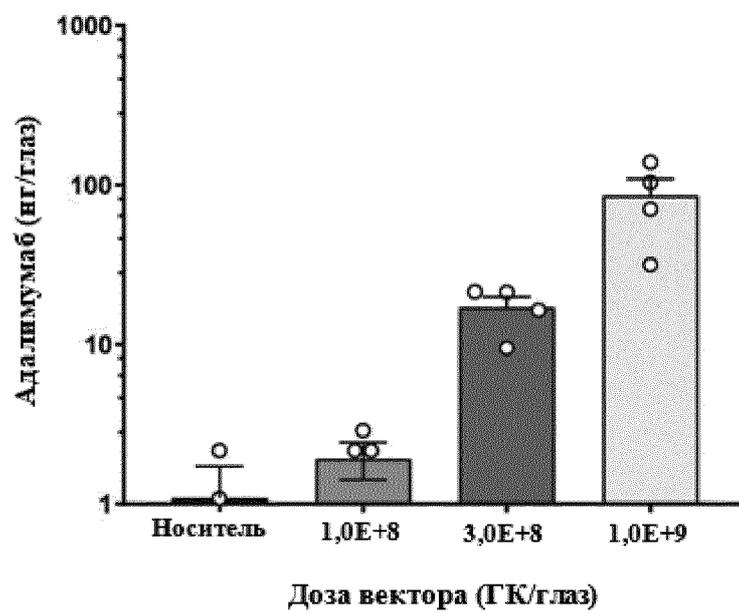


Фиг. 11В





Фиг. 13



Фиг. 14

