

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202391573** (13) **A1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**(43) Дата публикации заявки  
**2023.08.23**(51) Int. Cl. **C07K 16/10** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61P 31/16** (2006.01)  
**A61K 39/00** (2006.01)(22) Дата подачи заявки  
**2021.11.19**(54) **АНТИТЕЛА ПРОТИВ ВИРУСОВ ГРИППА А**(31) **63/117,437; 63/123,419**(32) **2020.11.23; 2020.12.09**(33) **US**(86) **PCT/US2021/060123**(87) **WO 2022/109291 2022.05.27**(71) Заявитель:  
**ВИР БАЙОТЕКНОЛОДЖИ, ИНК.**  
**(US); ХЬЮМАБС БАЙОМЕД СА**  
**(CH)**

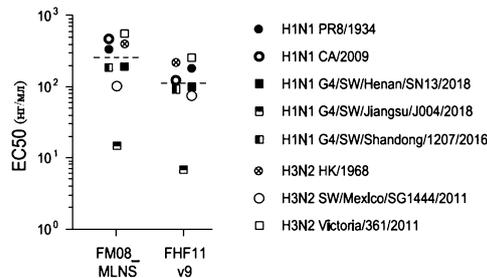
(72) Изобретатель:

**Корти Давиде, Пиззучо Маттео**  
**Самуэль, Цатта Фабриция, Камерони**  
**Элизабетта (CH), Снелл Дьёрдь (US)**

(74) Представитель:

**Харин А.В., Буре Н.Н., Стойко Г.В.,**  
**Галухина Д.В., Алексеев В.В. (RU)**

(57) Настоящее изобретение относится к антителам и их антигенсвязывающим фрагментам, которые могут связываться с гемагглютинином (НА) вируса гриппа А (IAV) и могут нейтрализовать инфекцию IAV. Также предложены полинуклеотиды, кодирующие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, векторы, содержащие указанные полинуклеотиды, клетки-хозяева, которые могут экспрессировать антитела или антигенсвязывающие фрагменты, связанные композиции и способы применения раскрытых в настоящем изобретении композиций, например для лечения или предотвращения инфекции IAV.



Нейтрализующая активность FHF11v9 и FM08\_MLNS в отношении вирусов H1N1 и H3N2, измеренная окрашиванием IAV NP

**A1****202391573****202391573****A1**

## АНТИТЕЛА ПРОТИВ ВИРУСОВ ГРИППА А

### ЗАЯВЛЕНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНО ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Перечень последовательностей, связанный с данной заявкой, представлен в текстовом формате вместо бумажной копии и включен в настоящее описание посредством ссылки. Имя текстового файла, содержащего перечень последовательностей: 930585\_411WO\_SEQUENCE\_LISTING.txt. Текстовый файл размером 44,4 КБ был создан 16 ноября 2021 года и отправляется в электронном виде через EFS-Web.

### ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Грипп представляет собой инфекционное заболевание, которое ежегодно распространяется по всему миру во время вспышек, в результате чего ежегодно происходит от около трех до около пяти миллионов случаев тяжелых заболеваний и около 290000-650000 случаев смерти от респираторных заболеваний (ВОЗ, Информационный бюллетень по гриппу (сезонный), 6 ноября 2018 г.). К наиболее распространенным симптомам относятся: внезапное повышение температуры, кашель (обычно сухой), головная боль, боль в мышцах и суставах, сильное недомогание (плохое самочувствие), боль в горле и насморк. Инкубационный период варьируется от одного до четырех дней, хотя обычно симптомы начинаются примерно через два дня после контакта с вирусом. Осложнения гриппа могут включать пневмонию, синусовые инфекции и ухудшение предыдущих проблем со здоровьем, таких как астма или сердечная недостаточность, сепсис или обострение хронического основного заболевания.

Грипп вызывается вирусом гриппа, антигенно и генетически разнообразной группой вирусов семейства Orthomyxoviridae, которые содержат негативно-смысловый одноцепочечный сегментированный РНК-геном. Известно, что из четырех типов вируса гриппа (А, В, С и D) три типа (А, В и С) поражают людей. Вирусы гриппа типа А, как правило, являются наиболее вирулентными патогенами человека и вызывают наиболее тяжелое заболевание.

Вирусы гриппа А можно классифицировать на основе различных подтипов основных присутствующих поверхностных белков: гемагглютинин (НА) и нейраминидаза (НА). Существует по меньшей мере 18 подтипов гриппа А, определяемых их белками гемагглютинина («НА»). НА можно разделить на две группы. Группа 1 включает подтипы Н1, Н2, Н5, Н6, Н8, Н9, Н11, Н12, Н13, Н16 и Н17, и группа 2 включает подтипы Н3, Н4, Н7, Н10, Н14 и Н15. Хотя все подтипы встречаются у птиц, в основном подтипы Н1, Н2 и Н3 вызывают заболевания у людей. Подтипы Н5, Н7 и Н9 вызывают спорадические

тяжелые инфекции у людей и могут привести к новой пандемии. Вирусы гриппа А непрерывно эволюционируют, генерируя новые варианты, явление, называемое антигенным дрейфом. Как следствие, антитела, продуцируемые в ответ на прошлые вирусы, могут плохо защищать от новых дрейфующих вирусов или не защищать от них. Следствием этого является то, что каждый год необходимо производить новые вакцины против вирусов H1 и H3, которые, по прогнозам, появятся, что является очень дорогостоящим и не всегда эффективным процессом. То же самое относится и к производству вакцины против гриппа H5.

HA является основным поверхностным белком вируса гриппа А и является основной мишенью нейтрализующих антител, индуцированных инфекцией или вакцинацией. Не ограничиваясь теорией, HA отвечает за связывание вируса с клетками с сиаловой кислотой на клеточной мембране, такими как клетки в верхних дыхательных путях или эритроциты. Кроме того, HA опосредует слияние вирусной оболочки с эндосомной мембраной после снижения pH, облегчая проникновение вируса в цитоплазму.

HA представляет собой гомотримерный интегральный мембранный гликопротеин. Тример HA состоит из трех идентичных мономеров, каждый из которых состоит из интактной одиночной полипептидной цепи HA0 с областями HA1 и HA2, связанными 2 дисульфидными мостиками. Каждая область HA2 принимает альфа-спиральную суперспиральную структуру и в основном образует «стеблевую» или «стволовую» область HA, в то время как область HA1 представляет собой небольшой глобулярный домен, содержащий смесь  $\alpha/\beta$ -структур («головная» область HA). Головная область глобулярного HA опосредует связывание с рецептором сиаловой кислоты, в то время как стволовой HA опосредует последующее слияние между вирусной и клеточной мембранами, которое запускается в эндосоме низким pH. В то время как иммунодоминантный головной домен глобулярного HA обладает высокой пластичностью с различными антигенными сайтами, подвергающимися последовательному антигенному дрейфу, стволовая область HA относительно консервативна среди подтипов. Существующие вакцины против гриппа в основном индуцируют иммунный ответ против иммунодоминантной и вариабельной головной области HA, которая развивается быстрее, чем стеблевая область HA (Kirkpatrick E, Qiu X, Wilson PC, Bahl J, Krammer F. The influenza virus hemagglutinin head evolves faster than the stalk domain. *Sci Rep.* 2018 Jul 11; 8(1): 10432). Поэтому конкретная вакцина против гриппа обычно обеспечивает защиту не более чем на несколько лет, и требуется ежегодная повторная разработка вакцин против гриппа.

Соответственно, необходимы способы широкой нейтрализации инфекций вирусом

гриппа А, в частности, с улучшенной эффективностью.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На фигуре 1 показан рабочий процесс для обнаружения моноклонального антитела к стоволовому «НА» (гемагглютинин), описанный более подробно в примере 1.

На фигуре 2 показано связывание моноклональных антител «FHF11» (также называемых в настоящем документе «FHF11-WT»; VH: SEQ ID NO: 2; VL: SEQ ID NO: 8) и «FHF12» (VH: SEQ ID NO: 14; VL: SEQ ID NO: 20) с гемагглютинидами (НА), полученными из вируса гриппа А (IAV), как определено с помощью проточной цитометрии с использованием клеток-мишеней млекопитающих, экспрессирующих НА. Также тестировали антитело сравнения «FM08» (VH: SEQ ID NO: 43; VL: SEQ ID NO: 44).

На фигурах 3А и 3В показано связывание FHF11 и FHF12 с H1, H2, H5 и H9 группы I, полученными из IAV (фигура 3А), и H3 группы II, полученным из IAV (фигура 3В), которое измеряли с помощью ELISA (иммуоферментный анализ), регистрируемое как Log EC50 (нг/мл). Также измеряли связывание антителом сравнения, FM08.

На фигуре 4 показано связывание FHF11 и FHF12 с НА из Swine Eurasian avian-подобного (EA) штамма H1N1, A/Swine/Jiangsu/J004/2018, экспрессированного в клетках млекопитающих, измеренное с помощью проточной цитометрии. Связывание измеряли при концентрациях антител 50 мкг/мл, 10 мкг/мл, 2 мкг/мл и 0,4 мкг/мл. Имитационное окрашивание показано как отрицательный контроль. Также измеряли связывание антителом сравнения, FM08.

На фигуре 5 показано отсутствие полиреактивности FHF11 и FHF12, как было протестировано в отношении клеток эпителия человека типа 2 (HEP-2). Полиреактивное антитело сравнения «F16v3.11.18» было включено в качестве положительного контроля, и антитело к парамиксовирусу «MPE8» было включено в качестве отрицательного контроля.

На фигурах 6А и 6В показана нейтрализация *in vitro* псевдовируса H1N1 и H3N2 IAV с помощью FHF11 и FHF12. На фигуре 6А показана нейтрализация H1N1 A/California//07/2009. На фигуре 6В показана нейтрализация H3N2 A/Aichi/2/68. Также приведены данные для антител сравнения FM08 и FY1.

На фигурах 7А и 7В показана нейтрализация *in vitro* псевдотипированных вирусов H5 и H7 с помощью FHF11 и FHF12. Также приведены данные для антитела сравнения FM08. На фигуре 7А показана нейтрализация H5/VN/11/94 pp. На фигуре 7В показана нейтрализация H7/IT/99 pp.

На фигурах 8А и 8В показана активация вариантов (F158) FcγRIIIa (фигура 8А) и

(V158) FcγRIIIa (фигура 8B) с помощью FHF11, как описано в примере 1. FM08 (содержащее мутации M428L и N434S («LS», также идентифицированные как «MLNS» в настоящем документе) в Fc) и FY1 (содержащее мутации G236R и L328R («GRLR») в Fc) были включены в качестве антител сравнения.

На фигурах 9A-9D представлены схематические иллюстрации определяющих комплементарность областей (CDR) легкой цепи и тяжелой цепи FM08 (в которых используются те же гены VH6-1/DH3-3, что и в FHF11 и FHF12), взаимодействующих с HA. Проиллюстрированы взаимодействия CDR FM08 с HA гриппа (фигура 9A), со слитым пептидом HA (фигура 9B), с гидрофобной бороздкой в HA (фигура 9C) и со спиралью A HA (фигура 9D).

Фигуры 10A-10B относятся к FHF11 и его последовательно сконструированным вариантам. На фигуре 10A суммировано связывание FHF11-WT и пятнадцати (15) вариантов антител FHF11 (от v1 до v15) с клетками млекопитающих, экспрессирующими различные подтипы HA, полученные из вирусов, циркулирующих в животном-резервуаре, как измерено с помощью FACS (метод анализа сортировки клеток с активированной флуоресценцией). Также приведены данные для антитела сравнения FM08. Окрашивание только вторичным антителом и полное окрашивание имитационно-инфицированных клеток включали в качестве отрицательных контролей. На фигуре 10B суммированы мутации в вариабельной(-ых) области(-ях) (по сравнению с исходным FHF11-WT), которые были сделаны для получения указанных вариантов FHF11.

На фигуре 11 показано связывание (показанное как LogEC50 (нг/мл)) FHF11-WT (VH: SEQ ID NO: 2; VL: SEQ ID NO: 8), FHF11v3 (VH: SEQ ID NO: 31; VL: SEQ ID NO: 8), FHF11v6 (VH: SEQ ID NO: 34; VL: SEQ ID NO: 8) и FHF11v9 (VH: SEQ ID NO: 37; VL: SEQ ID NO: 8), а также антителами сравнения FY1 и FM08 с HA, полученными из панели подтипов H3N2 IAV человека, как измерено с помощью ELISA. Панель показана справа от графика. Средняя геометрическая EC50 и средний геометрический SD-фактор EC50 для каждого антитела приведены в таблице в правом нижнем углу фигуры.

На фигуре 12 показано связывание (показанное как LogEC50 (нг/мл)) FHF11-WT, FHF11v3, FHF11v6 и FHF11v9, а также антителами сравнения FY1 и FM08 с HA, полученными из панели подтипов H1N1, H2N2, H5N1 и H9N2 IAV человека. Панель показана справа от графика. Средняя геометрическая EC50 и средний геометрический SD-фактор EC50 для каждого антитела приведены в таблице в правом нижнем углу фигуры.

На фигуре 13 показана кинетика связывания FHF11-WT, FHF11v3, FHF11v6 и FHF11v9, а также антител сравнения FY1 и FM08 с H5 HA («HA-5»), измеренная с помощью биослойной интерферометрии (BLI). Диссоциация представлена как  $k_{dis}$  (1/с),

ассоциация представлена как  $kon$  (1/Мс), и  $KD$  рассчитывали из соотношения  $kdis/kon$ .

На фигуре 14 показана кинетика связывания FHF11-WT, FHF11v3, FHF11v6 и FHF11v9, а также антител сравнения FY1 и FM08 с H7 HA («HA-7»), измеренная с помощью BLI. Диссоциация представлена как  $kdis$  (1/с), ассоциация представлена как  $kon$  (1/Мс), и  $KD$  рассчитывали из соотношения  $kdis/kon$ .

На фигуре 15А показана нейтрализация *in vitro* псевдовируса H5 с помощью FHF11 («FHF11 WT» на фигуре) и пятнадцати (15) вариантов антител, полученных из FHF11 WT, при повышении концентрации антител (фигура 15А). На фигуре 15В показана нейтрализация *in vitro* псевдовируса H5 с помощью FHF11 («FHF11 WT» на фигуре) и двенадцати (12) вариантов антител, полученных из FHF11 WT, и зарегистрированные как значения IC50 (нг/мл). На фигуре 15С показаны данные нейтрализации для FHF11-WT и трех вариантов антител, которые были выбраны для дальнейшего анализа, FHF11v3, FHF11v6 и FHF11v9. Рассчитанные значения IC50 (нг/мл) показаны справа от фигур 15А и 15С.

На фигурах 16А-16F показана нейтрализация *in vitro* H1N1 и H3N2 подтипов H1N1 A/PR/8/34 (фигура 16А), H1N1 A/Solomon Islands/3/06 (фигура 16В), H1N1 A/California/2009 (фигура 16С), H3N2 A/Aichi/2/68 (фигура 16D), H3N2 A/Brisbane/10/07 (фигура 16Е) и H3N2 A/Hong Kong/68 (фигура 16F) с помощью FHF11-WT и вариантов антител FHF11v3, FHF11v6 и FHF11v9. Также приведены данные для антител сравнения FY1 и FM08. Рассчитанные значения IC50 и IC90 (нг/мл) показаны под графиком на каждой фигуре.

На фигурах 17А и 17В показана активация FcγRIIIa с помощью FHF11v9. Активацию измеряли с использованием NFAT (ядерный фактор активированных Т-клеток)-опосредованного репортера люциферазы в сконструированных клетках Jurkat после контакта с инфицированными гриппом клетками A549. Клетки A549 предварительно инфицировали H1N1 (фигура 17А) или H3N2 (фигура 17В). Также приведены данные для антител сравнения FM08\_LS и FY1-GRLR.

На фигурах 18А и 18В показана активация FcγRIIIa с помощью FHF11v9. Активацию измеряли с использованием NFAT-опосредованного репортера люциферазы в сконструированных клетках Jurkat после контакта с инфицированными гриппом клетками A549. Клетки A549 предварительно инфицировали H1N1 (фигура 18А) или H3N2 (фигура 18В). Также приведены данные для антител сравнения FM08\_LS и FY1-GRLR.

На фигуре 19 показаны фармакокинетические свойства FHF11v9 («FHF11v9-LS»), FHF12 («FHF12-LS») и FM08 («FM08\_LS») M428L/N434S вариантов Fc у мышей tg32. Антитело вводили в указанной дозе. Рассчитанные значения периода полувыведения

показаны рамками.

На фигурах 20A-20D показаны измерения массы тела в течение пятнадцати дней у мышей BALB/c, инфицированных H1N1 A/Puerto Rico/8/34, после предварительной обработки FHF11v9. Антитело вводили в дозе 6 мг/кг (фигура 20A), 2 мг/кг (фигура 20B), 0,6 мг/кг (фигура 20C) или 0,2 мг/кг (фигура 20D) за один день до инфицирования с LD90 (90% летальная доза) A/Puerto Rico/8/34. Также измеряли массу тела мышей, получавших контрольный носитель (левый график на каждой фигуре).

На фигурах 21A-21D показаны измерения массы тела в течение пятнадцати дней у мышей BALB/c, инфицированных H3N2 A/Hong Kong/68, после предварительной обработки FHF11v9. Антитело вводили в дозе 6 мг/кг (фигура 21A), 2 мг/кг (фигура 21B), 0,6 мг/кг (фигура 21C) или 0,2 мг/кг (фигура 21D) за один день до инфицирования LD90 (90% летальная доза) H3N2 A/Hong Kong/68. Также измеряли массу тела мышей, получавших контрольный носитель (левый график на каждой фигуре).

На фигурах 22A и 22B показана выживаемость в течение пятнадцати дней мышей BALB/c, инфицированных H1N1 A/Puerto Rico/8/34 (фигура 22A) или H3N2 A/Hong Kong/8/68 (фигура 22B) после предварительной обработки FHF11v9 в указанной дозе. Также измеряли выживаемость у мышей, предварительно обработанных контрольным носителем.

На фигуре 23 показана нейтрализация *in vitro* подтипов H1N1 и H3N2 с помощью FHF11v9 и антитела сравнения FM08\_MLNS (также называемый FM08\_LS), измеренная с помощью окрашивания нуклеопротеина IAV.

На фигурах 24A и 24B показан дизайн исследования *in vivo* для оценки профилактической активности FHF11v9 («mAb-11» на фигуре 24A) и антитела сравнения, FM08\_MLNS («mAb-08» на фигуре 24A), у мышей Balb/c, инфицированных A/Puerto Rico/8/34 или A/Hong Kong/8/68. На фигуре 24A показаны, среди прочего, дозирование и штаммы вирусов, используемые в исследовании. На фигуре 24B показаны временная шкала и конечные точки исследования.

На фигуре 25 показаны пиковые значения отрицательной площади под кривой (представленные как EC50 в мкг/мл) относительно концентрации IgG в сыворотке из анализа площади под кривой для потери массы тела у мышей BALB/c, инфицированных A/Puerto Rico/8/34 (H1N1, левый график) или A/Hong Kong/8/68 (H3N2, правый график) после обработки FHF11v9 или антителом сравнения FM08\_MLNS.

На фигурах 26A и 26B показаны фармакокинетические свойства *in vivo* FHF11v9 и антитела сравнения FM08\_MLNS у мышей SCID tg32. На фигуре 26A показана концентрация антитела во времени (указанная как мкг/мл) в течение 30 дней после

введения. В таблице на фигуре 26В показан рассчитанный период полувыведения (указанный в днях), выделенный рамкой.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем документе предложены антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые могут связываться с и эффективно нейтрализовать инфекции различными вирусами гриппа А (IAV). Также предложены полинуклеотиды, кодирующие антитела и антигенсвязывающие фрагменты, векторы, клетки-хозяева и связанные композиции, а также способы применения антител, нуклеиновых кислот, векторов, клеток-хозяев и связанных композиций для лечения (например, уменьшения, задержки, устранения или предотвращения) инфекции IAV у субъекта и/или в производстве лекарственного препарата для лечения инфекции IAV у субъекта.

Прежде чем излагать это изобретение более подробно, может быть полезно для его понимания дать определения некоторых терминов, которые будут использоваться в настоящем документе. Дополнительные определения представлены на протяжении всего данного описания изобретения.

В настоящем описании любой диапазон концентраций, процентный диапазон, диапазон отношений или целочисленный диапазон следует понимать как включающие значение любого целого числа в пределах указанного диапазона и, когда это необходимо, его долей (таких как одна десятая и одна сотая целого числа), если не указано иное. Кроме того, любой диапазон чисел, указанных в настоящем документе, относящийся к любому физическому признаку, такому как полимерные субъединицы, размер или толщина, следует понимать как включающее любое целое число в пределах указанного диапазона, если не указано иное. В контексте настоящего документа «около» означает  $\pm 20\%$  от указанного диапазона, значения или структуры, если не указано иное. В некоторых вариантах осуществления «около» включает  $\pm 20\%$ ,  $\pm 15\%$ ,  $\pm 10\%$  или  $\pm 5\%$  от указанного диапазона, значения или структуры, если не указано иное. Следует понимать, что термины в единственном числе в контексте настоящего документа подразумевают «один или более» из перечисленных компонентов. Таким образом, использование альтернативы (например, «или») следует понимать как одну, обе или любую комбинацию этих альтернатив. В контексте настоящего документа термины «включать», «иметь» и «содержать» используются как синонимы, а эти термины и их варианты следует рассматривать как неограничивающие.

«Необязательный» или «необязательно» означает, что описанный далее элемент, компонент, событие или обстоятельство может иметь место или нет, и что описание

включает случаи, в которых элемент, компонент, событие или обстоятельство имеет место, и случаи, когда их нет.

Кроме того, следует понимать, что отдельные конструкции или группы конструкций, полученные из различных комбинаций структур и субъединиц, описанных в настоящей заявке, раскрыты в настоящей заявке в той же степени, как если бы каждая конструкция или группа конструкций была изложена отдельно. Таким образом, выбор конкретных структур или конкретных субъединиц находится в пределах объема настоящего изобретения.

Термин «состоящий по существу из» не эквивалентен термину «содержащий» и относится к указанным материалам или стадиям пункта формулы изобретения или к тем, которые не оказывают существенного влияния на основные характеристики заявленного объекта изобретения. Например, белковый домен, область или модуль (например, связывающий домен) или белок «состоит по существу из» конкретной аминокислотной последовательности, когда аминокислотная последовательность домена, области, модуля или белка включает удлинения, делеции, мутации или их комбинацию (например, аминокислоты на амино- или карбоксиконце или между доменами), которые в комбинации вносят вклад не более чем в 20 % (например, не более 15 %, 10 %, 8 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 % или 1 %) длины домена, области, модуля или белка и по существу не влияют (т.е., не снижают активность более чем на 50 %, например, не более чем на 40 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 % или 1 %) на активность домена(-ов), области(-ей), модуля(-ей) или белка (например, на аффинность связывания с мишенью связывающего белка).

В контексте настоящего документа «аминокислота» относится к встречающимся в природе и синтетическим аминокислотам, а также аналогам аминокислот и миметикам аминокислот, которые функционируют аналогично встречающимся в природе аминокислотам. Встречающиеся в природе аминокислоты представляют собой аминокислоты, кодируемые генетическим кодом, а также те аминокислоты, которые впоследствии модифицируются, например, гидроксипролин,  $\gamma$ -карбоксиглутамат и О-фосфосерин. Аналоги аминокислот относятся к соединениям, которые имеют ту же основную химическую структуру, что и встречающаяся в природе аминокислота, то есть,  $\alpha$ -углерод, который связан с водородом, карбоксильной группой, аминогруппой и R-группой, например, гомосерин, норлейцин, метионинсульфоксид, метионинметилсульфоний. Такие аналоги имеют модифицированные R-группы (например, норлейцин) или модифицированные пептидные остовы, но сохраняют ту же основную химическую структуру, что и встречающаяся в природе аминокислота.

Миметики аминокислот относятся к химическим соединениям, которые имеют структуру, которая отличается от общей химической структуры аминокислоты, но которая функционирует аналогично встречающейся в природе аминокислоте.

В контексте настоящего документа «мутация» относится к изменению последовательности молекулы нуклеиновой кислоты или молекулы полипептида по сравнению с референсной молекулой, или молекулой нуклеиновой кислоты дикого типа, или молекулой полипептида, соответственно. Мутация может привести к нескольким различным типам изменения последовательности, включая замену, вставку или делецию нуклеотида(-ов) или аминокислоты (аминокислот).

«Консервативная замена» относится к аминокислотным заменам, которые существенно не влияют или не изменяют характеристики связывания конкретного белка. Как правило, консервативные замены представляют собой замены, в которых замещенный аминокислотный остаток заменен аминокислотным остатком, имеющим схожую боковую цепь. Консервативные замены включают замену, основанную на одной из следующих групп: группа 1: аланин (Ala или A), глицин (Gly или G), серин (Ser или S), треонин (Thr или T); группа 2: аспарагиновая кислота (Asp или D), глутаминовая кислота (Glu или Z); группа 3: аспарагин (Asn или N), глутамин (Gln или Q); группа 4: аргинин (Arg или R), лизин (Lys или K), гистидин (His или H); группа 5: изолейцин (Ile или I), лейцин (Leu или L), метионин (Met или M), валин (Val или V); и группа 6: фенилаланин (Phe или F), тирозин (Tyr или Y), триптофан (Trp или W). Дополнительно или альтернативно, аминокислоты могут быть сгруппированы в группы консервативных замен по аналогичной функции, химической структуре или составу (например, кислотные, основные, алифатические, ароматические или серосодержащие). Например, алифатическая группа может включать, для целей замены, Gly, Ala, Val, Leu и Ile. Другие группы консервативных замен включают: серосодержащие: Met и цистеин (Cys или C); кислотные: Asp, Glu, Asn и Gln; небольшие алифатические, неполярные или слегка полярные остатки: Ala, Ser, Thr, Pro и Gly; полярные, отрицательно заряженные остатки и их амиды: Asp, Asn, Glu и Gln; полярные, положительно заряженные остатки: His, Arg и Lys; большие алифатические, неполярные остатки: Met, Leu, Ile, Val и Cys; и большие ароматические остатки: Phe, Tyr и Trp. Дополнительную информацию можно найти в Creighton (1984) *Proteins*, W.H. Freeman and Company.

В контексте настоящего документа «белок» или «полипептид» относится к полимеру аминокислотных остатков. Белки применяются к встречающимся в природе аминокислотным полимерам, а также к аминокислотным полимерам, в которых один или более аминокислотных остатков являются искусственными химическими миметиками

соответствующей встречающейся в природе аминокислоты, и не встречающимся в природе аминокислотным полимерам. Также рассматриваются варианты белков, пептидов и полипептидов согласно настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления варианты белков, пептидов и полипептидов содержат или состоят из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % или 99,9 % идентична аминокислотной последовательности определенной или референсной аминокислотной последовательности, как описано в настоящем документе.

«Молекула нуклеиновой кислоты», или «полинуклеотид», или «полинуклеиновая кислота» относится к полимерному соединению, включающему ковалентно связанные нуклеотиды, которые могут состоять из природных субъединиц (например, пуриновые или пиримидиновые основания) или неприродных субъединиц (например, морфолиновое кольцо). Пуриновые основания включают аденин, гуанин, гипоксантин и ксантин, а пиримидиновые основания включают урацил, тимин и цитозин. Молекулы нуклеиновой кислоты включают полирибонуклеиновую кислоту (РНК), которая включает мРНК (матричная РНК), микроРНК, миРНК (малая интерферирующая РНК), вирусную геномную РНК и синтетическую РНК, и полидезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК, также называемая дезоксирибонуклеиновой кислотой), которая включает кДНК (комплементарная ДНК), геномную ДНК и синтетическую ДНК, каждая из которых может быть одноцепочечной или двухцепочечной. В случае одноцепочечной цепи молекула нуклеиновой кислоты может представлять собой кодирующую цепь или не кодирующую (антисмысловую) цепь. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая аминокислотную последовательность, включает все нуклеотидные последовательности, кодирующие одну и ту же аминокислотную последовательность. Некоторые варианты нуклеотидных последовательностей могут также включать интрон(-ы) в той степени, в которой интрон(-ы) будет удален с помощью ко- или посттранскрипционных механизмов. Другими словами, различные нуклеотидные последовательности могут кодировать одну и ту же аминокислотную последовательность в результате избыточности или вырожденности генетического кода или путем сплайсинга.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит модифицированный нуклеозид, структуру кэп-1, структуру кэп-2 или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит псевдоуридин, N6-метиладенонзин, 5-метилцитидин, 2-тиоуридин или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления псевдоуридин включает N1-метилпсевдоуридин. Эти признаки известны в данной области техники и обсуждаются,

например, в Zhang et al. *Front. Immunol.*, DOI=10.3389/fimmu.2019.00594 (2019); Eyler et al. *PNAS* 116 (46): 23068-23071; DOI: 10.1073/pnas.1821754116 (2019); Nance and Meier, *ACS Cent. Sci.* 2021, 7, 5, 748–756; doi.org/10.1021/acscentsci.1c00197 (2021) и van Hoecke and Roose, *J. Translational Med* 17:54 (2019); <https://doi.org/10.1186/s12967-019-1804-8>, признаки модифицированных нуклеозидов и мРНК которых включены в настоящий документ посредством ссылки. Также рассматриваются варианты молекул нуклеиновых кислот по данному описанию. Варианты молекул нуклеиновой кислоты имеют по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% и предпочтительно 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 99,9% идентичность молекуле нуклеиновой кислоты определенного или референсного полинуклеотида, как описано в настоящем документе, или которые гибридизуются с полинуклеотидом в жестких условиях гибридизации, составляющих 0,015 М хлорид натрия, 0,0015 М цитрат натрия при около 65–68 °С или 0,015 М хлорид натрия, 0,0015 М цитрат натрия и 50% формамид при около 42 °С. Варианты молекул нуклеиновых кислот сохраняют способность кодировать их связывающий домен, имеющий функциональность, описанную в настоящем документе, такую как связывание молекулы-мишени.

«Процент идентичности последовательностей» относится к взаимосвязи между двумя или более последовательностями, как определено путем сравнения последовательностей. Предпочтительные способы определения идентичности последовательностей предназначены для обеспечения наилучшего соответствия между сравниваемыми последовательностями. Например, последовательности выровнены для целей оптимального сравнения (например, гэпы могут быть введены в одну или обе из первой и второй аминокислотной или нуклеотидной последовательности для оптимального выравнивания). Кроме того, негомологичные последовательности могут быть проигнорированы для целей сравнения. Процент идентичности последовательности, указанный в настоящем документе, рассчитывают по длине референсной последовательности, если не указано иное. Способы определения идентичности и сходства последовательностей можно найти в общедоступных компьютерных программах. Выравнивание последовательностей и расчеты процента идентичности могут быть выполнены с использованием программы BLAST (например, BLAST 2.0, BLASTP, BLASTN или BLASTX). Математический алгоритм, используемый в программах BLAST, можно найти в Altschul et al., *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402, 1997. В контексте настоящего документа следует понимать, что для анализа при применении аналитического программного обеспечения результаты анализа основаны на «установленных по умолчанию значениях» упоминаемой программы. «Установленные по умолчанию значения» означают любой набор значений или показателей, загружаемых

исходно с программным обеспечением при первом запуске.

Термин «выделенный» означает, что материал извлечен из своего исходного окружения (например, природной среды, если он является встречающимся в природе). Например, встречающаяся в природе нуклеиновая кислота или полипептид, присутствующий в живом животном, не является выделенным, но та же нуклеиновая кислота или полипептид, отделенный от некоторых или всех материалов, совместно с ним присутствующих в естественной системе, является выделенным. Такая нуклеиновая кислота может быть частью вектора и/или такая нуклеиновая кислота или полипептид могут быть частью композиции (например, клеточного лизата) и все еще могут быть выделены в том смысле, что такой вектор или композиция не является частью природной среды для нуклеиновой кислоты или полипептида. «Выделенный» может, в некоторых вариантах осуществления, также описывать антитело, антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор, клетку-хозяина или композицию, которая находится вне организма человека.

Термин «ген» означает сегмент ДНК или РНК, участвующий в получении полипептидной цепи; в некоторых контекстах он включает области, предшествующие и следующие за кодирующей областью (например, 5'-нетранслируемая область (UTR) и 3'-UTR), а также промежуточные последовательности (интроны) между отдельными кодирующими сегментами (экзонами).

«Функциональный вариант» относится к полипептиду или полинуклеотиду, который структурно схож или по существу структурно схож с исходным или референсным соединением согласно настоящему изобретению, но незначительно отличается по составу (например, одно основание, атом или функциональная группа отличаются, добавлены или удалены), так что полипептид или кодируемый полипептид способен выполнять по меньшей мере одну функцию исходного полипептида с по меньшей мере 50% эффективностью, предпочтительно по меньшей мере 55%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,9% или 100% уровнем активности исходного полипептида. Другими словами, функциональный вариант полипептида или кодируемого полипептида согласно настоящему изобретению имеет «схожее связывание», «схожую аффинность» или «схожую активность», когда функциональный вариант демонстрирует снижение производительности в выбранном анализе не более чем на 50 % по сравнению с исходным или референсным полипептидом, таким как анализ для измерения аффинности связывания (например, Вiasoge® или окрашивание тетрамером, измеряющее константу ассоциации ( $K_a$ ) или диссоциации ( $K_D$ )).

В контексте настоящего документа «функциональная часть» или «функциональный

фрагмент» относится к полипептиду или полинуклеотиду, который содержит только домен, часть или фрагмент исходного или референсного соединения, и полипептид или кодируемый полипептид сохраняет по меньшей мере 50% активность, связанную с доменом, частью или фрагментом исходного или референсного соединения, предпочтительно по меньшей мере 55%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,9% или 100% уровень активности исходного полипептида, или обеспечивает биологическое преимущество (например, эффекторную функцию). «Функциональная часть» или «функциональный фрагмент» полипептида или кодируемого полипептида согласно настоящему изобретению имеет «схожее связывание» или «схожую активность», когда функциональная часть или фрагмент демонстрирует снижение производительности в выбранном анализе не более чем на 50 % по сравнению с исходным или референсным полипептидом (предпочтительно не более чем на 20 % или 10 %, или не более чем на логарифмическую (log) разницу по сравнению с исходным или референсным по отношению к аффинности).

В контексте настоящего документа термин «сконструированный», «рекомбинантный» или «неприродный» относится к организму, микроорганизму, клетке, молекуле нуклеиновой кислоты или вектору, который включает по меньшей мере одно генетическое изменение или был модифицирован путем введения экзогенной или гетерологичной молекулы нуклеиновой кислоты, где такие изменения или модификации вводятся с помощью генной инженерии (т.е. вмешательства человека). Генетические изменения включают, например, модификации, вводящие экспрессируемые молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие функциональную РНК, белки, слитые белки или ферменты, или другие добавления, делеции, замены молекул нуклеиновых кислот или другие функциональные нарушения генетического материала клетки. Дополнительные модификации включают, например, некодирующие регуляторные области, в которых модификации изменяют экспрессию полинуклеотида, гена или оперона.

В контексте настоящего документа термин «гетерологичный», или «неэндогенный», или «экзогенный» относится к любому гену, белку, соединению, молекуле нуклеиновой кислоты или активности, которая не является нативной для клетки-хозяина или субъекта, или любому гену, белку, соединению, молекуле нуклеиновой кислоты или активности, которая является нативной для клетки-хозяина или субъекта, который был изменен. Гетерологичные, неэндогенные или экзогенные включают гены, белки, соединения или молекулы нуклеиновых кислот, которые были мутированы или иным образом изменены таким образом, что структура, активность или и то и другое различаются между нативными и измененными генами, белками, соединениями или

молекулами нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления гетерологичные, неэндогенные или экзогенные гены, белки или молекулы нуклеиновых кислот (например, рецепторы, лиганды и т.д.) могут быть неэндогенными для клетки-хозяина или субъекта, но вместо этого нуклеиновые кислоты, кодирующие такие гены, белки или молекулы нуклеиновых кислот, могут быть добавлены в клетку-хозяина путем конъюгации, трансформации, трансфекции, электропорации или тому подобного, где добавленная молекула нуклеиновой кислоты может интегрироваться в геном клетки-хозяина или может существовать в виде внехромосомного генетического материала (например, в виде плазмиды или другого самовоспроизводящегося вектора). Термин «гомологичный» или «гомолог» относится к гену, белку, соединению, молекуле нуклеиновой кислоты или активности, обнаруженной в или полученной из клетки-хозяина, вида или штамма. Например, гетерологичный или экзогенный полинуклеотид или ген, кодирующий полипептид, может быть гомологичным нативному полинуклеотиду или гену и кодировать гомологичный полипептид или активность, но полинуклеотид или полипептид может иметь измененную структуру, последовательность, уровень экспрессии или любую их комбинацию. Неэндогенный полинуклеотид или ген, а также кодируемый полипептид или активность могут быть из одного и того же вида, другого вида или их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты или ее часть, нативная для клетки-хозяина, будет считаться гетерологичной по отношению к клетке-хозяину, если она была изменена или мутирована, или молекула нуклеиновой кислоты, нативная для клетки-хозяина, может считаться гетерологичной, если она была изменена с помощью гетерологичной последовательности контроля экспрессии или была изменена с помощью эндогенной последовательности контроля экспрессии, обычно не связанной с молекулой нуклеиновой кислоты, нативной для клетки-хозяина. Кроме того, термин «гетерологичный» может относиться к биологической активности, которая отличается, изменена или не эндогенна для клетки-хозяина. Как описано в настоящем документе, более чем одна гетерологичная молекула нуклеиновой кислоты может быть введена в клетку-хозяина в виде отдельных молекул нуклеиновой кислоты, в виде множества индивидуально контролируемых генов, в виде полицистронной молекулы нуклеиновой кислоты, в виде одной молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей слитый белок, или любой их комбинации.

В контексте настоящего документа термин «эндогенный» или «нативный» относится к полинуклеотиду, гену, белку, соединению, молекуле или активности, которые обычно присутствуют в клетке-хозяине или субъекте.

В контексте настоящего документа «экспрессия» в данном контексте относится к

процессу, посредством которого получали полипептид на основе кодирующей последовательности молекулы нуклеиновой кислоты, такой как ген. Процесс может включать транскрипцию, посттранскрипционный контроль, посттранскрипционную модификацию, трансляцию, посттрансляционный контроль, посттрансляционную модификацию или любую их комбинацию. Экспрессируемая молекула нуклеиновой кислоты обычно функционально связана с последовательностью контроля экспрессии (например, промотором).

Термин «функционально связанный» относится к ассоциации двух или более молекул нуклеиновой кислоты на одном фрагменте нуклеиновой кислоты, так что функция одной из них зависит от другой. Например, промотор функционально связан с кодирующей последовательностью, если он способен регулировать экспрессию указанной кодирующей последовательности (т.е. кодирующая последовательность находится под транскрипционным контролем указанного промотора). «Несвязанный» означает, что ассоциированные генетические элементы не тесно связаны друг с другом, и функция одного не влияет на другого.

Как описано в настоящем документе, более чем одна гетерологичная молекула нуклеиновой кислоты может быть введена в клетку-хозяина в виде отдельных молекул нуклеиновой кислоты, в виде множества индивидуально контролируемых генов, в виде полицистронной молекулы нуклеиновой кислоты, в виде одной молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей белок (например, тяжелую цепь антитела), или любой их комбинации. Когда в клетку-хозяина вводят две или более гетерологичных молекул нуклеиновой кислоты, следует понимать, что две или более гетерологичных молекул нуклеиновой кислоты могут быть введены в виде одной молекулы нуклеиновой кислоты (например, на одном векторе), на отдельных векторах, интегрированных в хромосому-хозяина на одном сайте или нескольких сайтах, или любой их комбинации. Количество упомянутых гетерологичных молекул нуклеиновых кислот или белковых активностей относится к количеству кодирующих молекул нуклеиновых кислот или количеству белковых активностей, а не к количеству отдельных молекул нуклеиновых кислот, введенных в клетку-хозяина.

Термин «конструкция» относится к любому полинуклеотиду, который содержит рекомбинантную молекулу нуклеиновой кислоты (или, когда явно указывает контекст, слитый белок по настоящему изобретению). Конструкция (полинуклеотид) может присутствовать в векторе (например, бактериальном векторе, вирусном векторе) или может быть интегрирована в геном. «Вектор» представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая способна транспортировать другую молекулу нуклеиновой кислоты.

Векторы могут представлять собой, например, плазмиды, космиды, вирусы, вектор РНК или линейную или круговую молекулу ДНК или РНК, которые могут включать хромосомные, нехромосомные, полусинтетические или синтетические молекулы нуклеиновых кислот. Векторы согласно настоящему изобретению также включают транспозонные системы (например, транспозон «Спящая красавица», см., например, Geurts et al., *Mol. Ther.* 8:108, 2003; Mátés et al., *Nat. Genet.* 41:753, 2009). Примеры векторов представляют собой векторы, способные к автономной репликации (эписомальный вектор), способные доставлять полинуклеотид в геном клетки (например, вирусный вектор) или способные экспрессировать молекулы нуклеиновых кислот, с которыми они связаны (векторы экспрессии).

В контексте настоящего документа «вектор экспрессии» или «вектор» относится к конструкции ДНК, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты, которая функционально связана с подходящей контрольной последовательностью, способной осуществлять экспрессию молекулы нуклеиновой кислоты в подходящем хозяине. Такие контрольные последовательности включают промотор для осуществления транскрипции, необязательную операторную последовательность для контроля такой транскрипции, последовательность, кодирующую подходящие сайты связывания мРНК-рибосом, и последовательности, которые контролируют терминацию транскрипции и трансляции. Вектор может представлять собой плазмиду, фаговую частицу, вирус или просто потенциальную геномную вставку. После трансформации в подходящего хозяина вектор может реплицироваться и функционировать независимо от генома хозяина, или в некоторых случаях может интегрироваться в сам геном или доставлять полинуклеотид, содержащийся в векторе, в геном без последовательности вектора. В настоящем описании термины «плазида», «экспрессионная плазида», «вирус» и «вектор» часто используются взаимозаменяемо.

Термин «вводимый» в контексте вставки молекулы нуклеиновой кислоты в клетку означает «трансфекцию», «трансформацию» или «трансдукцию» и включает ссылку на включение молекулы нуклеиновой кислоты в эукариотическую или прокариотическую клетку, где молекула нуклеиновой кислоты может быть включена в геном клетки (например, хромосомы, плазмиды, пластиды или митохондриальной ДНК), преобразована в автономный репликон или временно экспрессирована (например, трансфицированная мРНК).

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды согласно настоящему изобретению могут быть функционально связаны с определенными элементами вектора. Например, полинуклеотидные последовательности, которые необходимы для

осуществления экспрессии и процессинга кодирующих последовательностей, с которыми они лигированы, могут быть функционально связаны. Последовательности контроля экспрессии могут включать соответствующие последовательности инициации, терминации, промотора и энхансера транскрипции; эффективные сигналы процессинга РНК, такие как сигналы сплайсинга и полиаденилирования; последовательности, которые стабилизируют цитоплазматическую мРНК; последовательности, которые повышают эффективность трансляции (т.е. консенсусные последовательности Козака); последовательности, которые повышают стабильность белка; и, возможно, последовательности, которые повышают секрецию белка. Последовательности контроля экспрессии могут быть функционально связаны, если они смежны с представляющим интерес геном и последовательностями контроля экспрессии, которые действуют в транс или на расстоянии, для контроля представляющего интерес гена.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит плазмидный вектор или вирусный вектор (например, лентивирусный вектор или  $\gamma$ -ретровирусный вектор). Вирусные векторы включают ретровирус, аденовирус, парвовирус (например, аденоассоциированные вирусы), коронавирусы, вирусы РНК с отрицательной цепью, такие как ортомиксовирус (например, вирус гриппа), рабдовирус (например, вирус бешенства и везикулярного стоматита), парамиксовирус (например, корь и Сендай), вирусы РНК с положительной цепью, такие как пикорнавирус и альфавирус, и вирусы двухцепочечной ДНК, включая аденовирус, герпесвирус (например, вирус простого герпеса 1 и 2 типов, вирус Эпштейна-Барра, цитомегаловирус), и поксвирус (например, осповакцины, оспу кур и оспу канареек). Другие вирусы включают, например, вирус Норуолк, тогавирус, флавивирус, реовирусы, паповавирус, гепаднавирус и вирус гепатита. Примеры ретровирусов включают лейкоз-саркому птиц, вирусы С-типа, вирусы В-типа, вирусы D-типа млекопитающих, группу HTLV-BLV, лентивирус, спумавирус (Coffin, J. M., *Retroviridae: The viruses and their replication*, In *Fundamental Virology*, Third Edition, B. N. Fields et al., Eds., Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996).

«Ретровирусы» представляют собой вирусы, имеющие геном РНК, который обратно транскрибируется в ДНК с использованием фермента обратной транскриптазы, затем обратно транскрибируемая ДНК включается в геном клетки-хозяина. «Гаммаретровирус» относится к роду ретровирусов (*Retroviridae*). Примеры гаммаретровирусов включают вирус стволовых клеток мыши, вирус лейкоза мыши, вирус лейкоза кошек, вирус саркомы кошек и вирусы ретикулоэндотелиоза птиц.

«Лентивирусные векторы» включают основанные на ВИЧ (вирус иммунодефицита человека) лентивирусные векторы для доставки генов, которые могут быть

интегрирующими или неинтегрирующими, обладают относительно большой упаковочной емкостью и могут трансдуцировать ряд различных типов клеток. Лентивирусные векторы обычно генерируют после временной трансфекции трех (упаковки, оболочки и переноса) или более плазмид в клетки-продуценты. Как и ВИЧ, лентивирусные векторы проникают в клетку-мишень через взаимодействие гликопротеинов вирусной поверхности с рецепторами на клеточной поверхности. При вводе вирусная РНК подвергается обратной транскрипции, которая опосредуется комплексом вирусной обратной транскриптазы. Продуктом обратной транскрипции является двухцепочечная линейная вирусная ДНК, которая является субстратом для вирусной интеграции в ДНК инфицированных клеток.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор может представлять собой гаммаретровирус, например, векторы, полученные из вируса лейкоза мышей Молони (MLV). В других вариантах осуществления вирусный вектор может представлять собой более сложный вектор, полученный из ретровируса, например, вектор, полученный из лентивируса. К этой категории относятся векторы, происходящие из ВИЧ-1. Другие примеры включают лентивирусные векторы, полученные из ВИЧ-2, FIV (вирус иммунодефицита кошки), вируса инфекционной анемии лошадей, SIV и вируса Маеди-Висна (лентивируса овец). Способы применения ретровирусных и лентивирусных вирусных векторов и упаковки клеток для трансдукции клеток-хозяев млекопитающих с вирусными частицами, содержащими трансгены, известны в данной области техники и были описаны ранее, например, в: патенте США 8119772; Walchli et al., PLoS One 6:327930, 2011; Zhao et al., J. Immunol. 174:4415, 2005; Engels et al., Hum. Gene Ther. 14:1155, 2003; Frecha et al., Mol. Ther. 18:1748, 2010; и Verhoeven et al., Methods Mol. Biol. 506:97, 2009. Ретровирусные и лентивирусные векторные конструкции и системы экспрессии также коммерчески доступны. Другие вирусные векторы также могут быть использованы для доставки полинуклеотидов, включая ДНК-вирусные векторы, включая, например, векторы на основе аденовируса и векторы на основе аденоассоциированного вируса (AAV); векторы, полученные из вирусов простого герпеса (HSV), включая векторы ампликона, репликационно дефектный HSV и аттенуированный HSV (Krisky et al., Gene Ther. 5:1517, 1998).

Другие векторы, которые могут быть использованы с композициями и способами согласно настоящему изобретению, включают векторы, полученные из бакуловирусов и  $\alpha$ -вирусов (Jolly, D J. 1999. Emerging Viral Vectors. pp. 209-40 в Friedmann T. ed. The Development of Human Gene Therapy. New York: Cold Spring Harbor Lab), или плазмидные векторы (такие как «спящая красавица» или другие транспозонные векторы).

Когда геном вирусного вектора содержит множество полинуклеотидов,

подлежащих экспрессии в клетке-хозяине в виде отдельных транскриптов, вирусный вектор может также содержать дополнительные последовательности между двумя (или более) транскриптами, обеспечивающие бицистронную или мультицистронную экспрессию. Примеры таких последовательностей, используемых в вирусных векторах, включают внутренние сайты входа рибосом (IRES), сайты расщепления фурином, вирусный пептид 2A или любую их комбинацию.

Плазмидные векторы, включая плазмидные векторы, кодирующие антитело на основе ДНК или антигенсвязывающий фрагмент, для прямого введения субъекту, описаны далее в настоящем документе.

В данном контексте термин «хозяин» относится к клетке или микроорганизму, предназначенному для генетической модификации гетерологичной молекулой нуклеиновой кислоты с получением представляющего интерес полипептида (например, антитела по настоящему изобретению).

Клетка-хозяин может включать любую отдельную клетку или клеточную культуру, которая может получать вектор или включение нуклеиновых кислот или экспрессирующих белков. Термин также охватывает потомство клетки-хозяина, генетически или фенотипически одинаковое или различное. Подходящие клетки-хозяева могут зависеть от вектора и могут включать клетки млекопитающих, клетки животных, клетки человека, клетки обезьяны, клетки насекомых, клетки дрожжей и бактериальные клетки. Эти клетки могут быть индуцированы для включения вектора или другого вещества с помощью вирусного вектора, трансформации путем осаждения фосфата кальция, DEAE-декстрана (DEAE - диэтиламиноэтил), электропорации, микроинъекции или других способов. См., например, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 2d ed. (Cold Spring Harbor Laboratory, 1989).

В контексте инфекции IAV «хозяин» относится к клетке или субъекту, инфицированному IAV.

«Антиген» или «Ag» в данном контексте относится к иммуногенной молекуле, которая вызывает иммунный ответ. Этот иммунный ответ может включать продукцию антител, активацию специфических иммунологически-компетентных клеток, активацию комплемента, антителозависимую цитотоксичность или любую их комбинацию. Антиген (иммуногенная молекула) может представлять собой, например, пептид, гликопептид, полипептид, гликополипептид, полинуклеотид, полисахарид, липид или т.п. Очевидно, что антиген может быть синтезирован, получен рекомбинантным способом или получен из биологического образца. Примерные биологические образцы, которые могут содержать один или более антигенов, включают образцы тканей, образцы кала, клетки,

биологические жидкости или их комбинации. Антигены могут продуцироваться клетками, которые были модифицированы или генетически сконструированы для экспрессии антигена. Антигены также могут присутствовать в НА IAV, например, присутствовать в вирионе, или экспрессироваться или присутствовать на поверхности клетки, инфицированной IAV.

Термин «эпитоп» или «антигенный эпитоп» включает любую молекулу, структуру, аминокислотную последовательность или детерминанту белка, которая распознается и специфически связывается родственной связывающей молекулой, такой как иммуноглобулин, или другой связывающей молекулой, доменом или белком. Эпитопные детерминанты обычно содержат типированные на химически активные поверхностные группы молекулы, такие как боковые цепи аминокислот или сахаров, и обычно обладают специфическими трехмерными структурными характеристиками, а также специфическими характеристиками заряда. Если антиген представляет собой или содержит пептид или белок, эпитоп может состоять из последовательных аминокислот (например, линейный эпитоп) или может состоять из аминокислот из различных частей или областей белка, которые сближены за счет сворачивания белка (например, прерывистый или конформационный эпитоп), или несмежных аминокислот, которые находятся в непосредственной близости независимо от сворачивания белка.

#### Антитела, антигенсвязывающие фрагменты и композиции

В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, которое содержит переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, и способно связываться с НА IAV.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению ассоциируется или объединяется с НА, при этом существенно не ассоциируясь или не объединяясь с любыми другими молекулами или компонентами в образце.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению специфически связывается с НА IAV. В контексте настоящего документа «специфически связывается» относится к ассоциации или объединению антитела или антигенсвязывающего фрагмента с антигеном с аффинностью или  $K_a$  (т.е. равновесной константой ассоциации конкретного связывающего взаимодействия с единицами измерения  $1/M$ )  $10^5 M^{-1}$  или более (что равно отношению скорости ассоциации  $[K_{on}]$  к скорости диссоциации  $[K_{off}]$  для этой реакции ассоциации), при этом не ассоциируясь или не объединяясь в значительной степени с любыми другими

молекулами или компонентами в образце. В качестве альтернативы, аффинность может быть определена как равновесная константа диссоциации ( $K_d$ ) отдельного связывающего взаимодействия, выражаемая в единицах измерения  $M$  (например, от  $10^{-5}$  до  $10^{-13}$   $M$ ). Антитела могут быть классифицированы как «высокоаффинные» антитела или как «низкоаффинные» антитела. «Высокоаффинные» антитела относятся к антителам, имеющим  $K_d$  по меньшей мере  $10^7 M^{-1}$ , по меньшей мере  $10^8 M^{-1}$ , по меньшей мере  $10^9 M^{-1}$ , по меньшей мере  $10^{10} M^{-1}$ , по меньшей мере  $10^{11} M^{-1}$ , по меньшей мере  $10^{12} M^{-1}$  или по меньшей мере  $10^{13} M^{-1}$ . «Низкоаффинные» антитела относятся к тем антителам, которые имеют  $K_d$  до  $10^7 M^{-1}$ , до  $10^6 M^{-1}$ , до  $10^5 M^{-1}$ . В качестве альтернативы, аффинность может быть определена как равновесная константа диссоциации ( $K_d$ ) отдельного связывающего взаимодействия, выражаемая в единицах  $M$  (например, от  $10^{-5}$  до  $10^{-13}$   $M$ ).

Известно множество анализов для идентификации антител по настоящему изобретению, которые связывают конкретную мишень, а также для определения аффинности связывающего домена или связывающего белка, таких как вестерн-блоттинг, ELISA (например, прямой, непрямой или сэндвич), аналитическое ультрацентрифугирование, спектроскопия, биослойная интерферометрия и анализ поверхностного плазмонного резонанса (Biacore®) (см., например, Scatchard et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 51:660, 1949; Wilson, Science 295:2103, 2002; Wolff et al., Cancer Res. 53:2560, 1993; и патенты США № 5283173, 5468614 или их эквивалент). Также известны анализы для оценки аффинности, или кажущейся аффинности, или относительной аффинности.

В некоторых примерах связывание может быть определено путем рекомбинантной экспрессии антигена НА IAV в клетке-хозяине (например, путем трансфекции) и иммуноокрашивания (например, фиксированной или фиксированной и пермеабелизированной) клетки-хозяина антителом и анализа связывания с помощью проточной цитометрии (например, с использованием анализатора клеток ZE5 (BioRad®) и программного обеспечения FlowJo (TreeStar)). В некоторых вариантах осуществления положительное связывание может быть определено дифференциальным окрашиванием антителом клеток, экспрессирующих НА IAV, по сравнению с контрольными (например, имитирующими) клетками.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению связывается с белком НА, как измерено с помощью биослойной интерферометрии или поверхностного плазмонного резонанса.

Некоторые характеристики описанных в настоящем документе антител или антигенсвязывающих фрагментов могут быть описаны с использованием значений IC50

или EC50. В некоторых вариантах осуществления IC50 представляет собой концентрацию композиции (например, антитела), которая приводит к полумаксимальному ингибированию указанной биологической или биохимической функции, активности или ответа. В некоторых вариантах осуществления EC50 представляет собой концентрацию композиции, которая обеспечивает полумаксимальный ответ в анализе. В некоторых вариантах осуществления, например, для описания способности описанного в настоящем документе антитела или антигенсвязывающего фрагмента нейтрализовать инфекцию IAV, IC50 и EC50 используются взаимозаменяемо.

В некоторых вариантах осуществления антитело по настоящему изобретению способно нейтрализовать инфекцию IAV. В данном контексте «нейтрализующее антитело» представляет собой антитело, которое может нейтрализовать, т.е. предотвращать, ингибировать, уменьшать, задерживать или препятствовать способности патогена иницировать и/или продлять инфекцию в организме хозяина. Термины «нейтрализующее антитело» и «антитело, которое нейтрализует» или «антитела, которые нейтрализуют» используются в настоящем документе взаимозаменяемо. В любом из раскрытых в настоящем документе вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно предотвращать и/или нейтрализовать инфекцию IAV на модели инфекции *in vitro*, и/или на животной модели инфекции *in vivo*, и/или у человека.

Каждый из терминов, понятных специалистам в данной области техники, имеет значение, используемое в данной области техники, если явно не определено иное в настоящем документе. Например, термин «антитело» относится к интактному антителу, содержащему по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями, а также любой антигенсвязывающей части или фрагменту интактного антитела, которая обладает или сохраняет способность связываться с молекулой-мишенью антигена, распознаваемой интактным антителом, такой как фрагмент scFv, Fab или Fab'2. Таким образом, термин «антитело» в настоящем документе используется в самом широком смысле и включает поликлональные и моноклональные антитела, включая интактные антитела и их функциональные (антигенсвязывающие) фрагменты антител, включая антигенсвязывающие фрагменты (Fab), фрагменты F(ab')2, фрагменты Fab', фрагменты Fv, фрагменты рекомбинантного IgG (rIgG), фрагменты одноцепочечных антител, включая одноцепочечные вариабельные фрагменты (scFv), и фрагменты однодоменных антител (sd) (например, sdAb, sdFv, нанотело). Термин охватывает генетически сконструированные и/или иным образом модифицированные формы иммуноглобулинов, такие как интратела, пептидные антитела, химерные антитела,

полностью человеческие антитела, гуманизированные антитела и гетероконъюгатные антитела, мультиспецифические, например, биспецифические антитела, диатела, триатела, тетратела, тандем ди-scFv и тандем три-scFv. Если не указано иное, термин «антитело» следует понимать как охватывающий его функциональные фрагменты. Термин также охватывает интактные или полноразмерные антитела, включая антитела любого класса или подкласса, включая IgG и его подклассы (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgE, IgA и IgD.

Термины «V<sub>L</sub>» или «VL» и «V<sub>H</sub>» или «VH» относятся к переменной связывающей области из легкой цепи антитела и тяжелой цепи антитела, соответственно. В некоторых вариантах осуществления VL представляет собой класс каппа (κ) (также «VK» в настоящем документе). В некоторых вариантах осуществления VL представляет собой класс лямбда (λ). Переменные связывающие области включают дискретные, четко определенные подобласти, известные как «определяющие комплементарность области» (CDR) и «каркасные области» (FR). Термины «область, определяющая комплементарность» и «CDR» являются синонимами «гиперпеременной области» или «HVR» и относятся к последовательностям аминокислот в пределах переменных областей антитела, которые, как правило, совместно придают антигенную специфичность и/или аффинность связывания антитела, при этом последовательные CDR (т.е. CDR1 и CDR2, CDR2 и CDR3) отделены друг от друга в первичной структуре каркасной областью. В каждой переменной области имеется три CDR (HCDR1, HCDR2, HCDR3; LCDR1, LCDR2, LCDR3; также называемые CDRH и CDRL, соответственно). В некоторых вариантах осуществления VH антитела содержит четыре FR и три CDR следующим образом: FR1-HCDR1-FR2-HCDR2-FR3-HCDR3-FR4; и VL антитела содержит четыре FR и три CDR следующим образом: FR1-LCDR1-FR2-LCDR2-FR3-LCDR3-FR4. Как правило, VH и VL вместе образуют антигенсвязывающий сайт посредством своих соответствующих CDR.

В контексте настоящего документа «вариант» CDR относится к функциональному варианту последовательности CDR, имеющему до 1-3 аминокислотных замен (например, консервативных или неконсервативных замен), делеций или их комбинаций.

Нумерация CDR и каркасных областей может быть в соответствии с любым известным способом или схемой, такой как схемы нумерации Kabat, Chothia, EU, IMGT, North, Martin и AHo (см., например, Kabat et al., "Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, Public Health Service National Institutes of Health, 1991, 5<sup>th</sup> ed.; Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)); Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol. 27:55, 2003; Honegger and Plückthun, J. Mol. Biol. 309:657-670 (2001); North et al. J Mol Biol. (2011) 406:228–56; doi:10.1016/j.jmb.2010.10.030; Abhinandan and Martin,

Mol Immunol. (2008) 45:3832–9. 10.1016/j.molimm.2008.05.022). Системы нумерации антител и CDR этих ссылок включены в настоящий документ посредством ссылки. Эквивалентные положения остатков можно аннотировать и сравнивать разные молекулы с помощью программного инструмента для нумерации и классификации рецепторов антигена (ANARCI) (2016, Bioinformatics 15:298-300). Соответственно, идентификация CDR примерной последовательности переменного домена (VH или VL), предложенной в настоящем документе, в соответствии с одной схемой нумерации не исключает антитело, содержащее CDR того же переменного домена, как определено с использованием другой схемы нумерации.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит CDR последовательности VH согласно любой из SEQ ID NO: 2, 26, 28, 31, 34, 37, 14, 39 и 41, и в последовательности VL согласно любой из SEQ ID NO: 8 или 20, в соответствии с любым известным способом нумерации CDR, включая способы нумерации Kabat, Chothia, EU, IMGT, Martin (Enhanced Chothia), Contact, North и AHO. В некоторых вариантах осуществления CDR соответствуют способу нумерации IMGT. В некоторых вариантах осуществления CDR соответствуют способу нумерации антител, разработанному Chemical Computing Group (CCG); например, с использованием программного обеспечения Molecular Operating Environment (MOE) ([www.chemcomp.com](http://www.chemcomp.com)). В некоторых вариантах осуществления CDR соответствуют способу нумерации Kabat.

В некоторых вариантах осуществления CDR соответствуют способу нумерации IMGT. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющую комплементарность область (CDR) H1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3:

(i) CDRH1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 32, 3 или 15 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три кислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или

(ii) CDRH2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 4, 29, 35, 16 и 42 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на

кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или (iii) CDRH3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 5 или 17 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или (iv) CDRL1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 9 или 21 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или (v) CDRL2 необязательно содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 10 или 22 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или (vi) CDRL3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 11 или 23 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (НА) вируса гриппа А (IAV); например, когда НА IAV экспрессируется на клеточной поверхности клетки-хозяина и/или на вирионе.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно нейтрализовать инфекцию IAV на модели инфекции *in vitro*, и/или на животной модели инфекции *in vivo*, и/или у человека, где, необязательно, указанная модель инфекции *in vitro* включает клетку-мишень и псевдовирус или клетку-мишень и живой вирус.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению содержит CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где каждая CDR независимо выбрана из соответствующей CDR НА-специфического антитела, как представлено в Таблице 1 и/или Таблице 2. То есть, рассматриваются все комбинации CDR из НА-специфических антител, представленных в Таблице 1 и/или Таблице 2.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1,

CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей: (i) 3-5 и 9-11, соответственно; (ii) 3, 29, 5 и 9-11, соответственно; (iii) 32, 4, 5 и 9-11, соответственно; (iv) 3, 35, 5 и 9-11, соответственно; (v) 32, 35, 5 и 9-11, соответственно; (vi) 15-17 и 21-23, соответственно; или (vii) 15, 42, 17 и 21-23, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей: (i) 3, 29, 5 и 9-11, соответственно; (ii) 3, 35, 17 и 9-11, соответственно; или (iii) 32, 35, 17 и 9-11, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее: (1) переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 53, аминокислотную последовательность согласно любой из SEQ ID NO: 4, 29 и 35 и аминокислотную последовательность согласно любой из SEQ ID NO: 5 и 17; и (2) переменный домен легкой цепи (VL), содержащий аминокислотные последовательности согласно SEQ ID NO: 9-11, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), где: (i) VH содержит CDRH1, CDRH2 и CDRH3 в соответствии с аминокислотной последовательностью VH, представленной в любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 и 41; и (ii) VL содержит CDRL1, CDRL2 и CDRL3 в соответствии с аминокислотной последовательностью VL, представленной в SEQ ID NO: 2,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), где: (i) VH содержит CDRH1, CDRH2 и CDRH3 в соответствии с аминокислотной последовательностью VH, представленной в любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 и 41; и (ii) VL содержит CDRL1, CDRL2 и CDRL3 в соответствии с аминокислотной последовательностью VL, представленной в SEQ ID

NO: 8, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV). В дополнительных вариантах осуществления CDR соответствуют системе нумерации IMGT, Kabat, Chothia, AhNo или North.

Термин «CL» относится к «константной области легкой цепи иммуноглобулина» или «константной области легкой цепи», т.е. константной области из легкой цепи антитела. Термин «CH» относится к «константной области тяжелой цепи иммуноглобулина» или «константной области тяжелой цепи», которая дополнительно делится в зависимости от изоформа антитела на домены CH1, CH2 и CH3 (IgA, IgD, IgG) или CH1, CH2, CH3 и CH4 (IgE, IgM). Fc-область тяжелой цепи антитела описана далее в настоящем документе. В любом из раскрытых в настоящем документе вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению содержит любую одну или более из CL, CH1, CH2 и CH3. В любом из раскрытых в настоящем документе вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению может содержать любую одну или более из CL, CH1, CH2 и CH3. В некоторых вариантах осуществления CL содержит аминокислотную последовательность, имеющую 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 48. В некоторых вариантах осуществления CH1-CH2-CH3 содержит аминокислотную последовательность, имеющую 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 47 или SEQ ID NO: 49. Следует понимать, что, например, продукция в линии клеток млекопитающих может удалять один или более С-концевых лизинов тяжелой цепи антитела (см., например, Liu et al. mAb 6(5): 1145-1154(2014)). Соответственно, антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению может содержать тяжелую цепь, CH1-CH3, CH3 или полипептид Fc, где С-концевой остаток лизин присутствует или отсутствует; другими словами, охватываются варианты осуществления, в которых С-концевой остаток тяжелой цепи, CH1-CH3 или полипептида Fc не является лизином, и варианты осуществления, где лизин представляет собой С-концевой остаток. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит множество антител и/или антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению, где одно или более антитело или антигенсвязывающий фрагмент не содержит остаток лизин на С-конце тяжелой цепи, CH1-CH3 или полипептида Fc, и где одно или более антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит остаток лизин на С-конце тяжелой цепи, CH1-CH3 или полипептида Fc.

«Fab» (антигенсвязывающий фрагмент) представляет собой часть антитела, которая связывается с антигенами и включает вариабельную область и CH1 тяжелой цепи, связанной с легкой цепью посредством межцепочечной дисульфидной связи. Каждый фрагмент Fab является одновалентным по отношению к связыванию антигена, то есть он имеет один антигенсвязывающий сайт. Обработка пепсином антитела дает один большой фрагмент F(ab')<sub>2</sub>, который примерно соответствует двум дисульфид-связанным Fab-фрагментам, обладающим двухвалентной антигенсвязывающей активностью и все еще способным к перекрестному связыванию антигена. Как Fab, так и F(ab')<sub>2</sub> являются примерами «антигенсвязывающих фрагментов». Фрагменты Fab' отличаются от фрагментов Fab наличием дополнительных нескольких остатков на карбоксильном конце домена CH1, включая один или более цистеинов из шарнирной области антитела. Fab'-SH в настоящем документе обозначает Fab', в котором остаток (остатки) цистеина константных доменов несут свободную тиольную группу. F(ab')<sub>2</sub>-фрагменты антител первоначально были получены в виде пар фрагментов Fab', имеющих между собой шарнирные цистеины. Известны также другие химические сочетания фрагментов антител.

Fab-фрагменты могут быть соединены, например, с помощью пептидного линкера, с образованием одноцепочечного Fab, также называемого в настоящем документе «scFab». В этих вариантах осуществления межцепочечная дисульфидная связь, которая присутствует в нативном Fab, может отсутствовать, и линкер полностью или частично служит для связывания или соединения фрагментов Fab в одной полипептидной цепи. Фрагмент Fab, полученный из тяжелой цепи (например, содержащий, состоящий из или состоящий по существу из VH + CH1, или «Fd»), и фрагмент Fab, полученный из легкой цепи (например, содержащий, состоящий из или состоящий по существу из VL + CL), могут быть связаны в любом порядке с образованием scFab. Например, scFab может быть расположен в направлении от N-конца к C-концу в соответствии с (фрагмент Fab тяжелой цепи – линкер – фрагмент Fab легкой цепи) или (фрагмент Fab легкой цепи – линкер – фрагмент Fab тяжелой цепи). Пептидные линкеры и примерные линкерные последовательности для применения в scFab более подробно обсуждаются в настоящем документе.

«Fv» представляет собой небольшой фрагмент антитела, который содержит полный антиген-распознающий и антигенсвязывающий сайт. Этот фрагмент обычно состоит из димера одного домена вариабельной области тяжелой и одного домена вариабельной области легкой цепи в тесной нековалентной ассоциации. Однако даже один вариабельный домен (или половина Fv, содержащая только три CDR, специфичных к антигену) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя обычно с более

низкой аффинностью, чем целый сайт связывания.

«Одноцепочечный Fv», также сокращенно «sFv» или «scFv», представляет собой фрагменты антител, которые содержат домены антител  $V_H$  и  $V_L$ , соединенные в одну полипептидную цепь. В некоторых вариантах осуществления полипептид scFv содержит полипептидный линкер, расположенный между доменами  $V_H$  и  $V_L$  и связывающий их, что позволяет scFv сохранять или формировать желаемую структуру для связывания антигена. Такой пептидный линкер может быть включен в слитый полипептид с использованием стандартных методик, хорошо известных в данной области техники. Обзор scFv см. в Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994); Borrebaeck 1995, *infra*. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит scFv, содержащий домен  $V_H$ , домен  $V_L$  и пептидный линкер, связывающий домен  $V_H$  с доменом  $V_L$ . В частных вариантах осуществления scFv содержит домен  $V_H$ , связанный с доменом  $V_L$  пептидным линкером, который может находиться в ориентации  $V_H$ -линкер- $V_L$  или в ориентации  $V_L$ -линкер- $V_H$ . Любой scFv по настоящему изобретению может быть сконструирован таким образом, что С-конец домена  $V_L$  связан короткой пептидной последовательностью с N-концом домена  $V_H$  или наоборот (т.е., (N) $V_L$ (C)-линкер-(N) $V_H$ (C) или (N) $V_H$ (C)-линкер-(N) $V_L$ (C)). В качестве альтернативы, в некоторых вариантах осуществления линкер может быть связан с N-концевой частью или концом домена  $V_H$ , домена  $V_L$  или обоими.

Последовательности пептидных линкеров могут быть выбраны, например, на основании: (1) их способности принимать гибкую расширенную конформацию; (2) их неспособности или отсутствия способности принимать вторичную структуру, которая может взаимодействовать с функциональными эпитопами на первом и втором полипептидах и/или на молекуле-мишени; и/или (3) отсутствия или относительного отсутствия гидрофобных или заряженных остатков, которые могут взаимодействовать с полипептидами и/или молекулой-мишенью. Другие соображения, касающиеся конструкции линкера (например, длины), могут включать конформацию или диапазон конформаций, в которых  $V_H$  и  $V_L$  могут образовывать функциональный антигенсвязывающий сайт. В некоторых вариантах осуществления пептидные линкерные последовательности содержат, например, остатки Gly, Asn и Ser. Другие близкие нейтральные аминокислоты, такие как Thr и Ala, также могут применяться в линкерной последовательности. Другие аминокислотные последовательности, которые могут быть использованы в качестве линкера, включают те, которые описаны в Maratea et al., *Gene* 40:39 46 (1985); Murphy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:8258 8262 (1986); патенте США

№ 4935233 и патенте США № 4751180. Другие иллюстративные и неограничивающие примеры линкеров могут включать, например, Glu-Gly-Lys-Ser-Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Glu-Ser-Lys-Val-Asp (Chaudhary et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1066-1070 (1990)) и Lys-Glu-Ser-Gly-Ser-Val-Ser-Ser-Glu-Gln-Leu-Ala-Gln-Phe-Arg-Ser-Leu-Asp (Bird et al. Science 242:423-426 (1988)) и пентамер Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, когда он присутствует в одной итерации или повторяется от 1 до 5 или более раз, или более. Может быть использован любой подходящий линкер, и, как правило, он может иметь длину около 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 15 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 аминокислот или менее чем около 200 аминокислот и предпочтительно будет содержать гибкую структуру (может обеспечивать гибкость и пространство для конформационного движения между двумя областями, доменами, мотивами, фрагментами или модулями, соединенными линкером) и предпочтительно будет биологически инертным и/или иметь низкий риск иммуногенности у человека.

scFv могут быть сконструированы с использованием любой комбинации последовательностей VH и VL или любой комбинации последовательностей CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 и CDRL3, описанных в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления линкерные последовательности не требуются; например, когда первый и второй полипептиды имеют несущественные N-концевые аминокислотные области, которые могут быть использованы для разделения функциональных доменов и предотвращения стерического влияния.

Во время разработки антитела, ДНК в локусах гена изменения (V), соединения (J), и разнообразия (D) зародышевой линии может быть перестроена, и могут происходить вставки и/или делеции нуклеотидов в кодирующей последовательности. Соматические мутации могут быть кодированы полученной последовательностью и могут быть идентифицированы со ссылкой на соответствующую известную последовательность зародышевой линии. В некоторых контекстах соматические мутации, которые не являются критическими для необходимого свойства антитела (например, связывание с антигеном HA IAV) или которые придают нежелательное свойство антителу (например, повышенный риск иммуногенности у субъекта, которому вводят антитело), или и то, и другое, могут быть заменены соответствующей кодируемой зародышевой линией аминокислотой или другой аминокислотой, так что необходимое свойство антитела улучшается или поддерживается, а нежелательное свойство антитела уменьшается или нейтрализуется. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению содержит по меньшей мере еще одну кодируемую зародышевой линией аминокислоту в варибельной области по

сравнению с исходным антителом или антигенсвязывающим фрагментом, при условии, что исходное антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит одну или более соматических мутаций. Аминокислотные последовательности варибельной области и CDR типовых антител HA IAV по настоящему изобретению представлены в таблице 1 настоящего документа.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную модификацию (например, мутацию по типу замены) для устранения нежелательного риска окисления, дезамидирования и/или изомеризации.

В настоящем документе также предложены варианты антител, которые содержат одно или более аминокислотных изменений в варибельной области (например, VH, VL, каркасной области или CDR) по сравнению с раскрытым в настоящем документе («исходным») антителом, где вариантное антитело способно связываться с антигеном HA IAV.

В некоторых вариантах осуществления (i) VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% (например, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более) идентичность аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 2, 26, 28, 31, 34, 37, 14, 39 и 41, где вариация последовательности относительно SEQ ID NO: 2, 26, 28, 31, 34, 37, 14, 39 или 41, соответственно, является необязательно ограниченной одной или более каркасными областями, и/или вариация последовательности включает одну или более замен на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или (ii) VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% (например, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более) идентичность аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 8 или 20, где вариация последовательности относительно SEQ ID NO: 8 или 20, соответственно, является необязательно ограниченной одной или более каркасными областями, и/или вариация последовательности включает одну или более замен на кодируемую зародышевой линией аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления (i) VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичность аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 и 41, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичность аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 8; или (ii) VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичность аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34,

14, 39 и 41, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичность аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 20.

В некоторых вариантах осуществления VH и VL содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, имеющих по меньшей мере 80% идентичность аминокислотным последовательностям согласно SEQ ID NO: (i) 2 и 8, соответственно; (ii) 26 и 8, соответственно; (iii) 28 и 8, соответственно; (iv) 31 и 8, соответственно; (v) 34 и 8, соответственно; (vi) 37 и 8, соответственно; (vii) 14 и 20, соответственно; (viii) 39 и 20, соответственно; или (ix) 41 и 20, соответственно; или (x) 57 и 58, соответственно. В других вариантах осуществления VH и VL содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, имеющих по меньшей мере 80% идентичность SEQ ID NO: (i) 2 и 20, соответственно; (ii) 26 и 20, соответственно; (iii) 28 и 20, соответственно; (iv) 31 и 20, соответственно; (v) 34 и 20, соответственно; (vi) 37 и 20, соответственно; (v) 14 и 8, соответственно; (vi) 39 и 8, соответственно; или (vii) 41 и 8, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления VH кодируется или происходит от VH6-1, DH3-3 и JH6, и/или VL кодируется или происходит от VK3-20 и JK3.

В некоторых вариантах осуществления VH содержит или состоит из любой аминокислотной последовательности VH, представленной в таблице 1 и/или таблице 2, и VL содержит или состоит из любой аминокислотной последовательности VL, представленной в таблице 1 и/или таблице 2. В некоторых вариантах осуществления VH и VL содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: (i) 2 и 8, соответственно; (ii) 26 и 8, соответственно; (iii) 28 и 8, соответственно; (iv) 31 и 8, соответственно; (v) 34 и 8, соответственно; (vi) 37 и 8, соответственно; (vii) 14 и 20, соответственно; (viii) 39 и 20, соответственно; или (ix) 41 и 20, соответственно. В других вариантах осуществления VH и VL содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: (i) 2 и 20, соответственно; (ii) 26 и 20, соответственно; (iii) 28 и 20, соответственно; (iv) 31 и 20, соответственно; (v) 34 и 20, соответственно; (vi) 37 и 20, соответственно; (v) 14 и 8, соответственно; (vi) 39 и 8, соответственно; (vii) 41 и 8, соответственно; или (viii) 57 и 58, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению является моноспецифическим (например, связывается с одним эпитопом) или является мультиспецифическим (например, связывается с несколькими эпитопами и/или молекулами-мишенями). Антитела и антигенсвязывающие фрагменты могут быть сконструированы в различных форматах. Примерные форматы антител описаны в Spiess et al., *Mol. Immunol.* 67(2):95 (2015), и в

Brinkmann и Kontermann, mAb 9(2): 182-212 (2017), форматы и способы их получения включены в настоящий документ посредством ссылки и включают, например, привлекающий Т-клетки биспецифический активатор (BiTE), DART (переориентирование с двойной аффинностью), сборки «выступ-во-впадину» (KIH), сборки scFv-CH3-KIH, KIH антител с общей легкой цепью, TandAbs (тандемные диатела), тройные тела, мини-тела TriBi, Fab-scFv, scFv-CH-CL-scFv, F(ab')<sub>2</sub>-scFv<sub>2</sub>, четырехвалентные HCabs, интратела, CrossMabs, Fabs двойного действия (DAF) (два в одном или четыре в одном), DutaMabs, DT-IgG, пары зарядов (Charge Pairs), Fab-arm Exchange (обмен плечами Fab), SEEDbodies, Triomabs, LUZ-Y сборки, Fcabs, κL-тела, ортотела Fabs, DVD-Igs (например, патент США № 8258268, форматы которого включены в настоящий документ полностью посредством ссылки), IgG(H)-scFv, scFv-(H)IgG, IgG(L)-scFv, scFv-(L)IgG, IgG(L,H)-Fv, IgG(H)-V, V(H)-IgG, IgG(L)-V, V(L)-IgG, KIH IgG-scFab, 2scFv-IgG, IgG-2scFv, scFv4-Ig, Zybody и DVI-IgG (четыре в одном), а также так называемые FIT-Ig (например, публикация PCT № WO 2015/103072, форматы которой полностью включены в настоящий документ посредством ссылки), так называемые форматы WuxiBody (например, публикация PCT № WO 2019/057122, форматы которой полностью включены в настоящий документ посредством ссылки), и так называемые форматы Ig In-Elbow-Insert (вставка в изгиб) (IEI-Ig; например, публикации PCT № WO 2019/024979 и WO 2019/025391, форматы которых полностью включены в настоящий документ посредством ссылки).

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит два или более доменов VH, два или более доменов VL или и то, и другое (т.е., два или более доменов VH и два или более доменов VL). В частных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент содержит формат (в направлении от N-конца к C-концу) VH-линкер-VL-линкер-VH-линкер-VL, где две последовательности VH могут быть одинаковыми или разными, и две последовательности VL могут быть одинаковыми или разными. Такие связанные scFv могут включать любую комбинацию доменов VH и VL, предназначенных для связывания с данной мишенью, и в форматах, содержащих два или более VH и/или два или более VL, могут быть связаны один, два или более различных эпитопов или антигенов. Следует понимать, что форматы, включающие несколько антигенсвязывающих доменов, могут включать последовательности VH и/или VL в любой комбинации или ориентации. Например, антигенсвязывающий фрагмент может включать формат VL-линкер-VH-линкер-VL-линкер-VH, VH-линкер-VL-линкер-VL-линкер-VH или VL-линкер-VH-линкер-VH-линкер-VL.

Моноспецифические или мультиспецифические антитела или антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению могут содержать любую комбинацию

последовательностей VH и VL и/или любую комбинацию последовательностей CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 и CDRL3, описанных в настоящем документе. Биспецифическое или мультиспецифическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент может, в некоторых вариантах осуществления изобретения, содержать один, два или более антигенсвязывающих доменов (например, VH и VL) согласно настоящему описанию. Могут присутствовать два или более связывающих домена, которые связываются с одним и тем же или другим эпитопом НА, и биспецифическое или мультиспецифическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, могут, в некоторых вариантах осуществления, содержать дополнительный НА-специфичный связывающий домен и/или могут содержать связывающий домен, который в целом связывается с другим антигеном или патогеном.

В любом из раскрытых в настоящем документе вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент могут быть мультиспецифическими; например, биспецифическими, триспецифическими или т. п.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит полипептид Fc или его фрагмент. «Fc» содержит карбоксиконцевые части (т.е. домены CH2 и CH3 IgG) обеих цепей H антитела, удерживаемых вместе дисульфидами. Fc может содержать димер, состоящий из двух полипептидов Fc (т.е. двух CH2-CH3 полипептидов). «Эффекторные функции» антитела относятся к биологическим активностям, относящимся к Fc-области (Fc-области нативной последовательности или Fc-области варианта аминокислотной последовательности) антитела, и варьируются в зависимости от изоформа антитела. Примеры эффекторных функций антител включают: связывание C1q и комплемент-зависимую цитотоксичность; связывание с рецептором Fc; антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз; подавление рецепторов клеточной поверхности (например, рецептора В-клеток) и активацию В-клеток. Как обсуждается в настоящем документе, модификации (например, аминокислотные замены) могут быть сделаны в Fc-домене с целью модификации (например, улучшения, уменьшения или удаления) одной или более функциональных свойств Fc-содержащего полипептида (например, антитела по настоящему изобретению). Такие функции включают, например, связывание с Fc-рецептором (FcR), модуляцию периода полувыведения антитела (например, путем связывания с FcRn), функцию ADCC, связывание с белком А, связывание с белком G и связывание с комплементом. Аминокислотные модификации, которые модифицируют (например, улучшают, уменьшают или удаляют) Fc-функции, включают, например, мутации T250Q/M428L, M252Y/S254T/T256E, H433K/N434F, M428L/N434S, E233P/L234V/L235A/G236 +

A327G/A330S/P331S, E333A, S239D/A330L/I332E, P257I/Q311, K326W/E333S, S239D/I332E/G236A, N297Q, K322A, S228P, L235E + E318A/K320A/K322A, L234A/L235A (также называемые в настоящем документе «LALA») и L234A/L235A/P329G, которые обобщены и аннотированы в обзоре «Engineered Fc Regions», опубликованном InvenGo (2011) и доступном в Интернете по адресу [invivogen.com/PDF/review/review-Engineered-Fc-Regions-invivogen.pdf?utm\\_source=review&utm\\_medium=pdf&utm\\_campaign=review&utm\\_content=Engineered-Fc-Regions](http://invivogen.com/PDF/review/review-Engineered-Fc-Regions-invivogen.pdf?utm_source=review&utm_medium=pdf&utm_campaign=review&utm_content=Engineered-Fc-Regions), и включены в настоящий документ посредством ссылки.

Например, для активации каскада комплемента белковый комплекс C1q может связываться по меньшей мере с двумя молекулами IgG1 или одной молекулой IgM, когда молекула(-ы) иммуноглобулина присоединена(-ы) к антигенной мишени (Ward, E. S., and Ghetie, V., *Ther. Immunol.* 2 (1995) 77-94). Burton, D. R. раскрыл (*Mol. Immunol.* 22 (1985) 161-206), что область тяжелой цепи, содержащая аминокислотные остатки 318-337, участвует в фиксации комплемента. Duncan, A. R. и Winter, G. (*Nature* 332 (1988) 738-740), используя сайт-специфический мутагенез, сообщили, что Glu318, Lys320 и Lys322 образуют сайт связывания с C1q. Роль остатков Glu318, Lys320 и Lys 322 в связывании C1q была подтверждена способностью короткого синтетического пептида, содержащего эти остатки, ингибировать опосредованный комплементом лизис.

Например, связывание FcR может быть опосредовано взаимодействием Fc-фрагмента (антитела) с Fc-рецепторами (FcR), которые представляют собой специализированные рецепторы клеточной поверхности на клетках, включая гемопоэтические клетки. Fc-рецепторы принадлежат к суперсемейству иммуноглобулинов и, как показано, опосредуют как удаление патогенов, покрытых антителами, путем фагоцитоза иммунных комплексов, так и лизис эритроцитов и различных других клеточных мишеней (например, опухолевых клеток), покрытых соответствующим антителом, посредством антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC; Van de Winkel, J. G., and Anderson, C. L., *J. Leukoc. Biol.* 49 (1991) 511-524). FcR определяются их специфичностью для классов иммуноглобулинов; Fc-рецепторы для антител IgG называются FcγR, для IgE - FcεR, для IgA - FcαR и так далее, а неонатальные Fc-рецепторы называются FcRn. Связывание с Fc-рецептором описано, например, в Ravetch, J. V., and Kinet, J. P., *Annu. Rev. Immunol.* 9 (1991) 457-492; Capel, P. J., et al., *Immunomethods* 4 (1994) 25-34; de Haas, M., et al., *J Lab. Clin. Med.* 126 (1995) 330-341; и Gessner, J. E., et al., *Ann. Hematol.* 76 (1998) 231-248.

Перекрестное сшивание рецепторов Fc-доменом нативных антител IgG (FcγR) запускает широкий спектр эффекторных функций, включая фагоцитоз,

антителозависимую клеточную цитотоксичность и высвобождение воспалительных медиаторов, а также клиренс иммунного комплекса и регуляцию продукции антител. В настоящем документе рассматриваются Fc-фрагменты, обеспечивающие перекрестное сшивание рецепторов (например, Fc $\gamma$ R). У человека к настоящему времени были охарактеризованы три класса Fc $\gamma$ R, которые представляют собой: (i) Fc $\gamma$ RI (CD64), который связывает мономерный IgG с высокой аффинностью и экспрессируется на макрофагах, моноцитах, нейтрофилах и эозинофилах; (ii) Fc $\gamma$ RII (CD32), который связывает комплексный IgG со средней или низкой аффинностью, широко экспрессируется, в частности, на лейкоцитах, который, как полагают, является центральным участником в опосредованном антителом иммунитете и который может быть разделен на Fc $\gamma$ RIIA, Fc $\gamma$ RIIB и Fc $\gamma$ RIIC, которые выполняют различные функции в иммунной системе, но связываются со схожей низкой аффинностью с IgG-Fc, и эктодомены этих рецепторов являются высоко гомологичными; и (iii) Fc $\gamma$ RIII (CD16), который связывает IgG со средней или низкой аффинностью и был обнаружен в двух формах: Fc $\gamma$ RIIIA, который был обнаружен на NK-клетках (естественные киллерные клетки), макрофагах, эозинофилах и некоторых моноцитах и T-клетках, и, как полагают, опосредует ADCC и Fc $\gamma$ RIIIB, который высоко экспрессируется на нейтрофилах.

Fc $\gamma$ RIIA обнаружен во многих клетках, участвующих в уничтожении (например, макрофагах, моноцитах, нейтрофилах), и, по-видимому, способен активировать процесс уничтожения. Fc $\gamma$ RIIB, по-видимому, играет роль в ингибирующих процессах и обнаруживается на B-клетках, макрофагах и на тучных клетках и эозинофилах. Важно отметить, что 75 % всех Fc $\gamma$ RIIB обнаружено в печени (Ganesan, L. P. et al., 2012: «Fc $\gamma$ RIIB on liver sinusoidal endothelium clears small immune complexes», *Journal of Immunology* 189: 4981–4988). Fc $\gamma$ RIIB обильно экспрессируется на синусоидальной эндотелии печени, называемом LSEC, и в клетках Купфера в печени, и LSEC являются основным местом клиренса малых иммунных комплексов (Ganesan, L. P. et al., 2012: Fc $\gamma$ RIIb on liver sinusoidal endothelium clears small immune complexes. *Journal of Immunology* 189: 4981–4988).

В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в данном документе, и их антигенсвязывающие фрагменты содержат полипептид Fc или его фрагмент для связывания с Fc $\gamma$ RIIb, в частности, область Fc, такую как, например, антитела IgG-типа. Кроме того, можно сконструировать Fc-фрагмент для усиления связывания Fc $\gamma$ RIIb путем введения мутаций S267E и L328F, как описано Chu, S. Y. et al., 2008: Inhibition of B cell receptor-mediated activation of primary human B cells by coengagement of CD19 and Fc $\gamma$ RIIb with Fc-engineered antibodies. *Molecular Immunology* 45, 3926–3933. Таким

образом, клиренс иммунных комплексов может быть увеличен (Chu, S., et al., 2014: Accelerated Clearance of IgE In Chimpanzees Is Mediated By Xmab7195, An Fc-Engineered Antibody With Enhanced Affinity For Inhibitory Receptor FcγRIIb. Am J Respir Crit, American Thoracic Society International Conference Abstracts). В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему изобретению или их антигенсвязывающие фрагменты содержат сконструированный фрагмент Fc с мутациями S267E и L328F, в частности, как описано в Chu, S. Y. et al., 2008: Inhibition of B cell receptor-mediated activation of primary human B cells by coengagement of CD19 and FcγRIIb with Fc-engineered antibodies. Molecular Immunology 45, 3926–3933.

На В-клетках FcγRIIb может функционировать для подавления дальнейшей продукции иммуноглобулина и переключения изотипа на, например, класс IgE. Считается, что на макрофагах FcγRIIb ингибирует фагоцитоз, опосредованный через FcγRIIA. На эозинофилах и тучных клетках В-форма может способствовать подавлению активации этих клеток посредством связывания IgE с отдельным рецептором.

Что касается связывания FcγRI, модификация в нативном IgG по меньшей мере одного из E233-G236, P238, D265, N297, A327 и P329 снижает связывание с FcγRI. Остатки IgG2 в положениях 233-236, замещенные в соответствующие положения IgG1 и IgG4, снижают связывание IgG1 и IgG4 с FcγRI в  $10^3$  раза и устраняют моноцитарный ответ человека на сенсibilизированные антителами эритроциты (Armour, K. L., et al. Eur. J. Immunol. 29 (1999) 2613-2624).

Что касается связывания FcγRII, то обнаружено снижение связывания с FcγRIIA, например, для мутации IgG по меньшей мере одного из E233-G236, P238, D265, N297, A327, P329, D270, Q295, A327, R292 и K414.

Двумя аллельными формами FcγRIIA человека являются вариант «H131», который связывается с Fc IgG1 с более высокой аффинностью, и вариант «R131», который связывается с Fc IgG1 с более низкой аффинностью. См., например, Bruhns et al., Blood 113:3716-3725 (2009).

Что касается связывания FcγRIII, то обнаружено снижение связывания с FcγRIIA, например, для мутации по меньшей мере одного из E233-G236, P238, D265, N297, A327, P329, D270, Q295, A327, S239, E269, E293, Y296, V303, A327, K338 и D376. Картирование сайтов связывания на IgG1 человека для Fc-рецепторов, вышеупомянутые сайты мутации и способы измерения связывания с FcγRI и FcγRIIA описаны в Shields, R. L., et al., J. Biol. Chem. 276 (2001) 6591-6604.

Двумя аллельными формами FcγRIIA человека являются вариант «F158», который связывается с Fc IgG1 с более низкой аффинностью, и вариант «V158», который

связывается с Fc IgG1 с более высокой аффинностью. См., например, Bruhns et al., Blood 113:3716-3725 (2009).

Что касается связывания с Fc $\gamma$ RII, то две области нативного Fc IgG, по-видимому, участвуют во взаимодействии между Fc $\gamma$ RII и IgG, а именно (i) нижний шарнирный сайт Fc IgG, в частности, аминокислотные остатки L, L, G, G (234 – 237, нумерация EU), и (ii) смежная область домена CH2 Fc IgG, в частности, петля и цепи в верхнем домене CH2, прилегающие к нижней шарнирной области, например, в области P331 (Wines, B.D., et al., J. Immunol. 2000; 164: 5313 – 5318). Кроме того, Fc $\gamma$ RI, по-видимому, связывается с одним и тем же сайтом на Fc IgG, тогда как FcRn и белок А связываются с другим сайтом на Fc IgG, который, по-видимому, находится на границе раздела CH2-CH3 (Wines, B.D., et al., J. Immunol. 2000; 164: 5313 – 5318).

Также рассматриваются мутации, которые увеличивают аффинность связывания полипептида Fc или его фрагмента по настоящему изобретению с (т.е. одним или более) рецептором Fc $\gamma$  (например, по сравнению с референсным полипептидом Fc или его фрагментом или содержащим его, который не содержит мутацию(-и)). См., например, Delillo and Ravetch, Cell 161(5):1035-1045 (2015) и Ahmed et al., J. Struc. Biol. 194(1):78 (2016), мутации Fc и методики которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

В любом из раскрытых в настоящем документе вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент могут содержать полипептид Fc или его фрагмент, содержащий мутацию, выбранную из G236A; S239D; A330L и I332E; или комбинацию, содержащую любые два или более из них; например, S239D/I332E; S239D/A330L/I332E; G236A/S239D/I332E; G236A/A330L/I332E (также называемую в настоящем документе «GAALIE») или G236A/S239D/A330L/I332E. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc или его фрагмент не содержит S239D. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc или его фрагмент содержит S в положении 239 (EU нумерация).

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc или его фрагмент может содержать или состоять из по меньшей мере части полипептида Fc или его фрагмента, которая участвует в связывании FcRn. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc или его фрагмент содержит одну или более аминокислотных модификаций, которые улучшают аффинность связывания (например, усиливают связывание с) FcRn (например, при pH около 6,0) и, таким образом, в некоторых вариантах осуществления увеличивают период полувыведения *in vivo* молекулы, содержащей полипептид Fc или его фрагмент (например, по сравнению с референсным полипептидом Fc или его фрагментом или

антителом, которое в противном случае является таким же, но не содержит модификацию(-и)). В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc или его фрагмент содержит или получен от Fc IgG, и мутация, увеличивающая период полувыведения, содержит одну или более из: M428L; N434S; N434H; N434A; N434S; M252Y; S254T; T256E; T250Q; P257I, Q311I; D376V; T307A; E380A (нумерация EU). В некоторых вариантах осуществления мутация, увеличивающая период полувыведения, включает M428L/N434S (также называемая в данном документе «MLNS»). В некоторых вариантах осуществления мутация, увеличивающая период полувыведения, включает M252Y/S254T/T256E. В некоторых вариантах осуществления мутация, увеличивающая период полувыведения, включает T250Q/M428L. В некоторых вариантах осуществления мутация, увеличивающая период полувыведения, включает P257I/Q311I. В некоторых вариантах осуществления мутация, увеличивающая период полувыведения, включает P257I/N434H. В некоторых вариантах осуществления мутация, увеличивающая период полувыведения, включает D376V/N434H. В некоторых вариантах осуществления мутация, увеличивающая период полувыведения, включает T307A/E380A/N434A.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает Fc-фрагмент, который содержит мутации по типу замены M428L/N434S. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает полипептид Fc или его фрагмент, который содержит мутаций по типу замены G236A/A330L/I332E. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит (например, IgG) Fc-фрагмент, который содержит мутацию G236A, мутацию A330L и мутацию I332E (GAALIE) и не содержит мутацию S239D (например, содержит нативный S в положении 239). В частных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент включает полипептид Fc или его фрагмент, который содержит мутации по типу замены: M428L/N434S и G236A/A330L/I332E, и необязательно не содержит S239D (например, содержит S в 239). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит полипептид Fc или его фрагмент, который содержит мутации по типу замены: M428L/N434S и G236A/S239D/A330L/I332E.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит мутацию, которая изменяет гликозилирование, где мутация, которая изменяет гликозилирование, включает N297A, N297Q или N297G, и/или антитело или антигенсвязывающий фрагмент частично или полностью агликозилировано и/или частично или полностью афукозилировано. Линии клеток-хозяев и способы получения частично или полностью агликозилированных или частично или полностью

афукозилированных антител и антигенсвязывающих фрагментов известны (см., например, публикацию PCT № WO 2016/181357; Suzuki et al. Clin. Cancer Res. 13(6):1875-82 (2007); Huang et al. MAbs 6:1-12 (2018)).

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно вызывать непрерывную защиту *in vivo* у субъекта, даже если у субъекта не могут быть обнаружены детектируемые уровни антитела или антигенсвязывающего фрагмента (то есть, если антитело или антигенсвязывающий фрагмент было удалено из субъекта после введения). Такая защита упоминается в настоящем документе как вакцинальный эффект. Не ограничиваясь теорией, полагают, что дендритные клетки могут интернализировать комплексы антитела и антигена и после этого индуцировать или способствовать эндогенному иммунному ответу против антигена. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит одну или более модификаций, таких как, например, мутации в Fc, включающие G236A, A330L и I332E, которые способны активировать дендритные клетки, которые могут индуцировать, например, иммунитет Т-клеток к антигену.

В любом из раскрытых в настоящем документе вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит полипептид Fc или его фрагмент, включая CH2 (или ее фрагмент), CH3 (или ее фрагмент) или CH2 и CH3, где CH2, CH3 или оба могут быть любого изотипа и могут содержать аминокислотные замены или другие модификации по сравнению с соответствующим CH2 или CH3 дикого типа, соответственно. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc по настоящему изобретению содержит два CH2-CH3 полипептида, которые ассоциируются с образованием димера.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению содержит антитело IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело IgG1 человека содержит легкую цепь каппа. В некоторых вариантах осуществления антитело IgG1 человека содержит Fc дикого типа. В некоторых других вариантах осуществления антитело IgG1 человека содержит одну или более мутаций в Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело IgG1 человека содержит мутации M428L и N434S в Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело IgG1 человека содержит мутации G236A, A330L и I332E в Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело IgG1 человека содержит мутации M428L, N434S, G236A, A330L и I332E в Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело IgG1 человека не содержит каких-либо других мутаций в Fc по сравнению с Fc IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело IgG1 человека содержит аминокислотную

последовательность VH SEQ ID NO: 37 и аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 8.

В некоторых вариантах осуществления раскрытое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит CH1-CH3, которые содержат или состоят из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 47 или 49. В некоторых вариантах осуществления раскрытое в настоящем документе антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит CL, которая содержит или состоит из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 48.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит тяжелую цепь и легкую цепь, где: (i) тяжелая цепь содержит или состоит из (1) переменного домена тяжелой цепи (VH), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 37, и (2) CH1-CH3, которые содержат или состоят из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 47 или 49; и (ii) легкая цепь содержит или состоит из (1) переменного домена легкой цепи (VL), где VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8, и (2) CL, которая содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 48.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит две тяжелые цепи и две легкие цепи, где: (i) каждая из двух тяжелых цепей содержит или состоит из (1) переменного домена тяжелой цепи (VH), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 37, и (2) CH1-CH3, которые содержат или состоят из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 47 или 49; и (ii) каждая из двух легких цепей содержит или состоит из (1) переменного домена легкой цепи (VL), где VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8, и (2) CL, которая содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 48.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит тяжелую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 50 или 51, и легкую цепь, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит две тяжелые цепи, каждая из которых содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 50 или 51, и две легкие цепи, каждая из которых содержит или состоит из SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий

фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56, и легкую цепь, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит две тяжелые цепи, каждая из которых содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56, и две легкие цепи, каждая из которых содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52.

В любом из раскрытых в настоящем документе вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент может быть моноклональным. Термин «моноклональное антитело» (mAb) в настоящем документе относится к антителу, полученному из популяции по существу однородных антител, то есть отдельные антитела в составе популяции являются идентичными, за исключением возможных естественно присутствующих мутаций, которые могут присутствовать в небольших количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифичными, поскольку они направлены против одной антигенной детерминанты. Кроме того, по сравнению с препаратами поликлональных антител, содержащими различные антитела, направленные против различных эпитопов, каждое моноклональное антитело направлено против одного эпитопа антигена. Кроме специфичности, моноклональные антитела обладают преимуществом, заключающимся в том, что их можно синтезировать в виде, не загрязненном другими антителами. Определение «моноклональный» не следует толковать как требующий продуцирования антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела, пригодные для применения в настоящем изобретении, могут быть получены с помощью гибридной методики, впервые описанной Kohler et al., *Nature* 256:495 (1975), или могут быть получены с использованием способов рекомбинантной ДНК в клетках бактерий, эукариотических животных или растений (см., например, патент США № 4816567). Моноклональные антитела также могут быть выделены из библиотек фаговых антител с использованием методик, описанных в Clackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991) и Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991), например. Моноклональные антитела также могут быть получены с использованием способов, описанных в публикации PCT № WO 2004/076677A2.

Антитела и антигенсвязывающие фрагменты согласно настоящему изобретению включают «химерные антитела», в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям антител, полученных от

конкретного вида или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, в то время как остальная часть цепи(-ей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям антител, полученных от другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагментам таких антител, при условии, что они проявляют желаемую биологическую активность (см. патент США № 4816567; 5530101 и 7498415; и Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). Например, химерные антитела могут содержать человеческие и нечеловеческие остатки. Кроме того, химерные антитела могут содержать остатки, которые не обнаружены в реципиентном антителе или в донорском антителе. Эти модификации сделаны для дополнительного улучшения характеристик антител. Для получения дополнительной информации см. Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); и Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992). Химерные антитела также включают приматизированные и гуманизированные антитела.

«Гуманизированное антитело» обычно считают человеческим антителом, которое содержит один или более аминокислотных остатков, введенных в него из источника, который не является человеком. Эти аминокислотные остатки нечеловеческого происхождения обычно берут из переменного домена. Гуманизация может быть выполнена по методу Уинтера (Winter) и сотрудников (Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986); Reichmann et al., Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., Science, 239:1534-1536 (1988)), путем замены нечеловеческих переменных последовательностей на соответствующие последовательности человеческого антитела. Соответственно, такие «гуманизированные» антитела представляют собой химерные антитела (патент США № 4816567; 5530101 и 7498415), где по существу менее чем интактный переменный домен человека замещен соответствующей последовательностью из вида, не являющегося человеком. В некоторых случаях «гуманизированное» антитело представляет собой антитело, которое продуцируется нечеловеческой клеткой или клеткой животного, и содержит человеческие последовательности, например, домены H<sub>C</sub>.

«Человеческое антитело» представляет собой антитело, содержащее только последовательности, которые присутствуют в антителе, продуцируемом человеком (т.е. последовательности, которые кодируются генами, кодирующими человеческие антитела). Однако в данном контексте человеческие антитела могут содержать остатки или модификации, не обнаруженные во встречающемся в природе человеческом антителе (например, антителе, выделенном из человека), включая те модификации и варианты последовательностей, которые описаны в данном документе. Они, как правило, выполняются для дополнительного улучшения или повышения характеристик антител. В

некоторых случаях человеческие антитела продуцируются трансгенными животными. Например, см. патент США № 5770429; 6596541 и 7049426.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению является химерным, гуманизированным или человеческим.

В некоторых вариантах осуществления для описания или характеристики антител или антигенсвязывающих фрагментов согласно настоящему изобретению применяют различные фармакокинетические («ФК») параметры. Подробная информация о сборе концентраций антител в сыворотке с целью оценки ФК-параметров описана в связи с примерами в настоящем документе. Термин « $t_{1/2}$ » или «период полувыведения» относится к периоду полувыведения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, включенного в фармацевтическую композицию, вводимую субъекту. Термин « $C_{last}$ » обычно относится к последней измеряемой концентрации в плазме (то есть, после этого вещество не присутствует в измеряемой концентрации в плазме).

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению способно предотвращать и/или ослаблять инфекцию: (i) H1N1 IAV, где, необязательно, H1N1 IAV включает A/PR8/34; и/или (ii) H3N2 IAV, где, необязательно, H3N2 IAV включает A/Hong Kong/68.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению способно предотвращать или снижать потерю массы у субъекта, имеющего инфекцию IAV, необязательно в течение (i) вплоть до 15 дней или (ii) в течение 15 дней или более после введения эффективного количества антитела или антигенсвязывающего фрагмента, где предотвращение или снижение потери массы представлено относительно не получавшего лечения референсного субъекта, имеющего инфекцию IAV. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению способно предотвращать потерю массы тела более 10 % у субъекта, имеющего инфекцию IAV, где потерю массы тела определяют относительно массы тела субъекта непосредственно до инфекции IAV или на ранней стадии инфекции IAV. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению способно продлевать выживаемость субъекта, имеющего инфекцию IAV, по сравнению с выживаемостью не получавшего лечения референсного субъекта, имеющего инфекцию IAV.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению имеет период полувыведения *in vivo* у мыши (например, мыши tg32): (i) в диапазоне от около 7 до около 12,2 дней, от около 8 до около

11 дней, от около 8,5 до около 10,5 дней или от около 9 до около 10,5 дней; (ii) от 8 до 11 дней, или от 8,5 до 10,5 дней, или от 9 до 10 дней; (iii) 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9, 9,0, 9,1, 9,2, 9,3, 9,4, 9,5, 9,6, 9,7, 9,8, 9,9, 10,0, 10,1, 10,2, 10,3, 10,4, 10,5, 10,6, 10,7, 10,8, 10,9, 11,0, 11,1, 11,2, 11,3, 11,4, 11,5, 11,6, 11,7, 11,8, 11,9, 12,0, 12,1 или 12,2 дней; (iv) в диапазоне от около 9,5 до около 12,5 дней, от около 10 до 11,5 дней; (v) от 10 до 11 дней или от 10,5 до 11 дней; (vi) от 10 до 11,5 дней, или от 10,5 до 11 дней, или от 10 до 11 дней; и/или (vii) 9,5, 9,6, 9,7, 9,8, 9,9, 10,0, 10,1, 10,2, 10,3, 10,4, 10,5, 10,6, 10,7, 10,8, 10,9, 11,0, 11,1, 11,2, 11,3, 11,4, 11,5, 11,6, 11,7, 11,8, 11,9, 12,0, 12,1, 12,2, 12,3, 12,4 или 12,5 дней.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению специфически связывается с НА и не связывается или специфически не связывается с мишенью, отличной от НА.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению способно связываться с одним или более из следующих подтипов IAV: H1, H2, H3, H4, H5, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H17 и H18.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению способно предотвращать или ослаблять инфекцию IAV у субъекта. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению способно нейтрализовать инфекцию: (i) H1N1 IAV, где, необязательно, H1N1 IAV включает одно или более из: A/California/07/2009, A/PR/8/34 и A/Solomon Islands/3/06; и (ii) H3N2 IAV, где, необязательно, H3N2 IAV включает одно или более из: A/Aichi/2/68, A/Brisbane/10/07 и A/Hong Kong/68.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению способно: (iii) нейтрализовать инфекцию H1N1 IAV, необязательно A/California/07/2009, с IC50 в диапазоне от около  $10^3$  до около  $10^4$  нг/мл, необязательно в диапазоне от 2000 до 6000 нг/мл (например, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500 или 6000 нг/мл); и/или (iv) нейтрализовать инфекцию H3N2 IAV, необязательно A/Aichi/2/68, с IC50 в диапазоне от  $10^3$  до  $10^4$  нг/мл, необязательно в диапазоне от 3000 до 10000 нг/мл.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению способно нейтрализовать инфекцию: (i) IAV группы 1, где, необязательно, IAV группы 1 включает или представляет собой H5 IAV, где, дополнительно необязательно, IAV H5 включает или представляет собой H5/VN/11/94

pp; и (ii) IAV группы 2, где, необязательно, IAV группы 2 включает или представляет собой H7 IAV, где, дополнительно необязательно, IAV H7 включает или представляет собой H7/IT/99 pp, где, необязательно, нейтрализация инфекции является такой, как определено с применением вируса, псевдотипированного IAV.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению способно: (iii) нейтрализовать инфекцию IAV группы 1, необязательно H5/VN/11/94, с IC50 в диапазоне от около 1 до около 8 нг/мл (например, около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 нг/мл); и (iv) нейтрализовать инфекцию IAV группы 2, необязательно H7/IT/99 pp, с IC50 в диапазоне от около 10 до около 200 нг/мл.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению способно активировать FcγRIIIa человека, который необязательно представляет собой аллель F158.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению способно активировать FcγRIIIa человека, который необязательно представляет собой аллель H131. В некоторых вариантах осуществления активация является такой, как определено с применением клетки-хозяина (необязательно клетки Jurkat), содержащей: (i) (a) FcγRIIIa человека (необязательно аллель F158) и/или (b) FcγRIIIa человека (необязательно аллель H131); и (ii) последовательность контроля экспрессии NFAT, функционально связанную с последовательностью, кодирующей репортер, такой как репортер люциферазы, после инкубации (например, в течение 20 часов) антитела или антигенсвязывающего фрагмента с клеткой-мишенью (например, клеткой A549), инфицированной IAV.

В некоторых дополнительных вариантах осуществления активация является такой, как определено после инкубации антитела или антигенсвязывающего фрагмента с: (1) клеткой-мишенью, инфицированной H1N1 IAV, где, необязательно, H1N1 IAV представляет собой A/PR/8/34, и где, необязательно, инфекция имеет множественность заражения (MOI), равную 6; и/или (2) клеткой-мишенью, инфицированной H3N2 IAV, где, необязательно, H3N2 IAV представляет собой A/Aichi/2/68, и где, необязательно, инфекция имеет множественность заражения (MOI), равную 18.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению способно нейтрализовать инфекцию псевдовиром H5 с IC50 менее 4,5 нг/мл, 4,0 нг/мл или менее, 3,0 нг/мл или менее, 2,5 нг/мл или менее, 2,0 нг/мл или менее, 1,5 нг/мл или менее, 1,0 нг/мл или менее, 0,9 нг/мл или менее, 0,8 нг/мл или менее, 0,7 нг/мл или менее, 0,6 нг/мл или менее, 0,5 нг/мл или менее, 0,4 нг/мл или менее, 0,3 нг/мл или менее или 0,2 нг/мл или менее.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению способно нейтрализовать инфекцию псевдовиром H5 с IC50 в диапазоне: от около 0,2 до около 4,5 нг/мл, или от около 0,2 до около 4,0 нг/мл, или от около 0,2 до около 3,5 нг/мл, или от около 0,2 до около 3,0 нг/мл, или от около 0,2 до около 2,5 нг/мл, или от около 0,2 до около 2,0 нг/мл, или от около 0,2 до около 1,5 нг/мл, или от около 0,2 до около 1,0 нг/мл, или от около 0,2 до около 0,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 4,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 4,0 нг/мл, или от около 0,5 до около 3,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 3,0 нг/мл, или от около 0,5 до около 2,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 2,0 нг/мл, или от около 0,5 до около 1,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 1,0 нг/мл, или от около 1,0 до около 4,5 нг/мл, или от около 1,0 до около 4,0 нг/мл, или от около 1,0 до около 3,5 нг/мл, или от около 1,0 до около 3,0 нг/мл, или от около 1,0 до около 2,5 нг/мл, или от около 1,0 до около 2,0 нг/мл, или от около 1,0 до около 1,5 нг/мл, или от около 1,5 до около 4,5 нг/мл, или от около 1,5 до около 4,0 нг/мл, или от около 1,5 до около 3,5 нг/мл, или от около 1,5 до около 3,0 нг/мл, или от около 1,5 до около 2,5 нг/мл, или от около 1,5 до около 2,0 нг/мл, или от около 2,0 до около 4,5 нг/мл, или от около 2,0 до около 4,0 нг/мл, или от около 2,0 до около 3,5 нг/мл, или от около 2,0 до около 3,0 нг/мл, или от около 2,0 до около 2,5 нг/мл, или от около 2,5 до около 4,5 нг/мл, или от около 2,5 до около 4,0 нг/мл, или от около 2,5 до около 3,5 нг/мл, или от около 2,5 до около 3,0 нг/мл, или от около 3,0 до около 4,5 нг/мл, или от около 3,0 до около 4,0 нг/мл, или от около 3,0 до около 3,5 нг/мл, или от около 3,5 до около 4,5 нг/мл, или от около 3,5 до около 4,0 нг/мл, или от около 4,0 до около 4,5 нг/мл.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению способно нейтрализовать инфекцию псевдовиром H5 с IC50 около 0,6 нг/мл, около 0,5 нг/мл, около 0,4 нг/мл, около 0,3 нг/мл или около 0,2 нг/мл.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению способно нейтрализовать инфекцию псевдовиром H5 с IC50 0,7 нг/мл или менее, 0,6 нг/мл или менее, 0,5 нг/мл или менее, 0,4 нг/мл или менее, 0,3 нг/мл или менее или 0,20 нг/мл или менее.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению способно нейтрализовать инфекцию: (i) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 850 до около 4500 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1000 до около 5400 нг/мл; и/или (ii) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 300 до около 2800 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 7600 нг/мл.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению способно нейтрализовать инфекцию: (i) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 880 до около 1120 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1050 до около 1680 нг/мл; (ii) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 300 до около 2100 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 2700 нг/мл; (iii) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 1100 до около 2700 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1040 до около 4540 нг/мл; (iv) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 500 до около 2420 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 680 до около 4570 нг/мл; (v) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 1030 до около 1680 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1780 до около 4760 нг/мл; (vi) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 440 до около 2540 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 450 до около 4250 нг/мл; (vii) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 1950 до около 2000 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 2420 до около 5400 нг/мл; и/или (viii) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 880 до около 2820 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1170 до около 7630 нг/мл.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению способно нейтрализовать инфекцию: (i) H1N1 A/PR/8/34 IAV с IC50 в диапазоне от около 850 до около 2000 нг/мл (например, около 880 нг/мл, около 1000 нг/мл, около 1100 нг/мл, около 2000 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 1050 до около 2400 нг/мл (например, около 1050 нг/мл, около 1850 нг/мл, около 1780 нг/мл, около 2400 нг/мл); (ii) H1N1 A/Solomon Islands/3/06 IAV с IC50 в диапазоне от около 1100 до около 2700 нг/мл (например, около 1100 нг/мл, около 1680 нг/мл, около 1950 нг/мл, около 2700 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 1680 до около 5400 нг/мл (например, около 1680 нг/мл, около 4500 нг/мл, около 4700 нг/мл, около 5400 нг/мл);

(iii) H3N2 A/Aichi/2/68 IAV с IC50 в диапазоне от около 2100 до около 2900 нг/мл (например, около 2100 нг/мл, около 2400 нг/мл, около 2500 нг/мл, около 2800 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 2700 до около 7600 нг/мл (например, около 2700 нг/мл, около 4200, около 4500 нг/мл, около 7600 нг/мл); (iv) H3N2 A/Brisbane/10/07 IAV с IC50 в диапазоне от около 300 до около 880 нг/мл (например, около 300 нг/мл, около 440 нг/мл, около 500 нг/мл, около 880 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 1200 нг/мл (например, около 350 нг/мл, около 450 нг/мл, около 680 нг/мл, около 1200 нг/мл); (v) H1N1 A/CAL/09 IAV с IC50 в диапазоне от около 3100 до около 4500 нг/мл (например, около 3100 нг/мл, около 3600 нг/мл, около 4300 нг/мл, около 4500 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 1200 нг/мл (например, около 350 нг/мл, около 450 нг/мл, около 680 нг/мл, около 1200 нг/мл); и/или (vi) H3N2 A/HK/68 IAV с IC50 в диапазоне от около 2000 до около 3000 нг/мл (например, около 2000 нг/мл,

около 2100 нг/мл, около 2200 нг/мл, около 2300 нг/мл, около 2400 нг/мл, около 2500 нг/мл, около 2600 нг/мл, около 2700 нг/мл, около 2800 нг/мл, около 2900 нг/мл, около 3000 нг/мл), предпочтительно в диапазоне от около 2100 до около 2500 нг/мл.

В некоторых варинатах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению способно нейтрализовать инфекцию: (i) H1N1 A/PR/8/34 IAV с IC50 в диапазоне: от около 860 до около 920 нг/мл, от около 1000 до около 1060 нг/мл, от около 1080 до около 1140 нг/мл, или от около 1970 до около 2030 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне: от около 1015 до около 1075 нг/мл, от около 1750 до около 1810 нг/мл, от около 1750 до около 1830 нг/мл, или от около 2390 до около 2450 нг/мл; (ii) H1N1 A/Solomon Islands/3/06 IAV с IC50 в диапазоне от около 1100 до около 2700 нг/мл (например, около 1100 нг/мл, около 1680 нг/мл, около 1950 нг/мл, около 2700 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 1680 до около 5400 нг/мл (например, около 1680 нг/мл, около 4500 нг/мл, около 4700 нг/мл, около 5400 нг/мл); (iii) H3N2 A/Aichi/2/68 IAV с IC50 в диапазоне от около 2100 до около 2900 нг/мл (например, около 2100 нг/мл, около 2400 нг/мл, около 2800 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 2700 до около 7600 нг/мл (например, около 2700 нг/мл, около 4200, около 4500 нг/мл, около 7600 нг/мл); и/или (iv) H3N3 A/Brisbane/10/07 IAV с IC50 в диапазоне от около 300 до около 880 нг/мл (например, около 300 нг/мл, около 440 нг/мл, около 500 нг/мл, около 88 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 1200 нг/мл (например, около 350 нг/мл, около 450 нг/мл, около 680 нг/мл, около 1200 нг/мл).

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению способно связываться с одним или более из следующих подтипов H3N2 IAV: A/Babol/36/2005; A/Hong Kong/CUHK31987/2011; A/Texas/50/2012; A/Wisconsin/67/2005; A/Netherlands/178/1995; A/Johannesburg/33/1994; A/Guangdong-Luohu/1256/2009; A/California/7/2004; A/Hanoi/EL134/2008; A/Wuhan/359/1995; A/Victoria/210/2009; A/Philippines/472/2002; A/Hanoi/EL201/2009; A/Victoria/210/2009; A/Missouri/09/2014; A/Perth/16/2009; A/Wyoming/03/2003; A/Moscow/10/1999; A/Sydney/5/1997; A/Nanchang/933/1995; A/Beijing/32/92; A/Aichi/2/1968; A/Brisbane/10/2007 и A/Switzerland/9715293/2013.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению способно связываться с одним или более подтипами H3N2 IAV с logEC50 (нг/мл) в диапазоне от около 0,1 до около 6, от около 0,1 до около 5,5, от около 1 до около 5, от около 0,1 до около 4,5, от около 0,1 до около 4,0, от около 0,1 до около 3,5, от около 0,1 до около 3, от около 0,1 до около 2,5, от около 0,1 до около 2,0, от 0,1 до около 1,5, от 0,1 до около 1,0, или около 1,9, около 1,8, около 1,7,

около 1,6, около 1,5, около 1,4, около 1,3, около 1,2, около 1,1, около 1,0, около 0,9, около 0,8, около 0,7, около 0,6, около 0,5, около 0,4, около 0,3, около 0,2 или около 0,1 нг/мл, где связывание является таким, как определено с помощью ELISA.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению способно связываться с одним или более из (i)-(iv): (i) H1 HA, который необязательно включает одно или более из: A/England/195/2009; A/Brisbane/59/2007; A/Solomon Islands/3/2006; A/New Caledonia/20/99; A/Texas/36/1991; A/Taiwan/01/1986; A/New Jersey/8/1976; A/Albany/12/1951; A/Fort Monmouth/1/1947; A/New York/1/1918; A/Puerto Rico/8/34 и A/California/07/2009; (ii) H2 HA, необязательно включающий A/Japan/305/1957; (iii) H5 HA, необязательно включающий A/Vietnam/1194/2004; и (iv) H9 HA, необязательно включающий A/Hong Kong/1073/99.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению связывается с H5 HA и/или H7 HA с KD менее  $1,0E-12$  M, менее  $1,0E-11$  M, менее  $1,0E-10$  M, менее  $1,0E-9$  M, менее  $1,0E-8$  M или менее  $1,0E-7$  M, или  $1,0E-8$  M или менее,  $1,0E-9$  M или менее,  $1,0E-10$  или менее,  $1,0E-11$  или менее или  $1,0E-12$  или менее (например, как определено с помощью Биослойной интерферометрии (BLI)).

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению способно связываться с одним или более из (i)-(iv) с  $\log EC_{50}$  (нг/мл) в диапазоне: от около 0,05 до около 1,5, от около 0,05 до около 1,4, от около 0,05 до около 1,3, от около 0,05 до около 1,2, от около 0,05 до около 1,1, от около 0,05 до около 1,0, от около 0,05 до около 0,9, от около 0,05 до около 0,8, от около 0,05 до около 0,7, от около 0,05 до около 0,6, от около 0,05 до около 0,5, от около 0,1 до около 1, или около 1,3, около 1,2, около 1,1, около 1,0, около 0,9, около 0,8, около 0,7, около 0,6, около 0,5, около 0,4, около 0,3, около 0,2, около 0,1 или около 0,05, где связывание является таким, как определено с помощью ELISA.

#### Полинуклеотиды, векторы и клетки-хозяева

В другом аспекте настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, которые кодируют любое из описанных в настоящем документе антител или их антигенсвязывающий фрагмент, или их часть (например, CDR, VH, VL, тяжелую цепь или легкую цепь).

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) или рибонуклеиновую кислоту (РНК), причем РНК необязательно включает матричную РНК (мРНК).

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит

модифицированный нуклеозид, структуру кэп-1, структуру кэп-2 или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит псевдоуридин, N6-метиладенонзин, 5-метилцитидин, 2-тиоуридин или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления псевдоуридин включает N1-метилпсевдоуридин.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид является кодон-оптимизированным для экспрессии в клетке-хозяине (например, клетке человека или клетке CHO). После того, как кодирующая последовательность становится известной или идентифицирована, оптимизация кодонов может быть выполнена с использованием известных методик и инструментов, например, с использованием инструмента GGenScript® OptimumGene™, см. также Scholten et al., Clin. Immunol. 119:135, 2006. Кодон-оптимизированные последовательности включают последовательности, которые частично кодон-оптимизированы (то есть, один или более кодонов оптимизированы для экспрессии в клетке-хозяине), и те, которые полностью кодон-оптимизированы.

Следует также понимать, что полинуклеотиды, кодирующие антитела и антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению, могут обладать различными нуклеотидными последовательностями, при этом все еще кодируя одно и то же антитело или антигенсвязывающий фрагмент из-за, например, вырожденности генетического кода, сплайсинга и т. п.

В некоторых вариантах осуществления предложен полинуклеотид, включающий полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 50% (например, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более) идентичность полинуклеотидной последовательности согласно одной или более из SEQ ID NO: 1, 6, 7, 12, 25, 27, 30, 33, 36, 13, 18, 19, 24, 38 и 40.

В некоторых вариантах осуществления предложен полинуклеотид, включающий: (i) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 6, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID





полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 24; или (ix) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 40, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 24.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь антитела, содержит или состоит из полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 54.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий легкую цепь антитела, содержит или состоит из полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь антитела, содержит или состоит из полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 54, и полинуклеотид, кодирующий легкую цепь антитела, содержит или состоит из полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 55.

В любом из раскрытых в настоящем документе вариантов осуществления полинуклеотид может содержать дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) или рибонуклеиновую кислоту (РНК). В некоторых вариантах осуществления изобретения РНК включает матричную РНК (мРНК).

Также предложены векторы, где векторы содержат или включают полинуклеотид, описанный в настоящем документе (например, полинуклеотид, кодирующий антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с HA IAV). Вектор может содержать любой один или более из векторов, описанных в настоящем документе. В частных вариантах осуществления предложен вектор, который содержит конструкцию ДНК-плазмиды, кодирующую антитело или антигенсвязывающий фрагмент, или их часть (например, так называемое «DMAb»; см., например, Muthumani et al., *J Infect Dis.* 214(3):369-378 (2016); Muthumani et al., *Hum Vaccin Immunother* 9:2253-2262 (2013); Flingai et al., *Sci Rep.* 5:12616 (2015); и Elliott et al., *NPJ Vaccines* 18 (2017), где конструкции ДНК, кодирующие антитело, и родственные способы применения, включая введения того же самого, включены в настоящий документ в качестве ссылки). В

некоторых вариантах осуществления конструкция ДНК-плазмиды содержит одну открытую рамку считывания, кодирующую тяжелую цепь и легкую цепь (или VH и VL) антитела или антигенсвязывающего фрагмента, где последовательность, кодирующая тяжелую цепь, и последовательность, кодирующая легкую цепь, необязательно разделены полинуклеотидом, кодирующим сайт расщепления протеазой, и/или полинуклеотидом, кодирующим саморасщепляющийся пептид. В некоторых вариантах осуществления заместительные компоненты антитела или антигенсвязывающего фрагмента кодируются полинуклеотидом, содержащимся в одной плазмиде. В других вариантах осуществления заместительные компоненты антитела или антигенсвязывающего фрагмента кодируются полинуклеотидом, содержащимся в двух или более плазмидах (например, первая плазида содержит полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь, VH или VH+CH1, и вторая плазида содержит полинуклеотид, кодирующий родственную легкую цепь, VL или VL+CL). В некоторых вариантах осуществления одна плазида содержит полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь и/или легкую цепь из двух или более антител или антигенсвязывающих фрагментов согласно настоящему изобретению. Иллюстративный вектор экспрессии представляет собой pVax1, доступный от Invitrogen®. ДНК-плазида по настоящему изобретению может быть доставлена субъекту, например, с помощью электропорации (например, внутримышечной электропорации) или с соответствующим составом (например, гиалуронидазой).

В некоторых вариантах осуществления предложен способ, который включает введение субъекту первого полинуклеотида (например, мРНК), кодирующего тяжелую цепь, VH или Fd (VH + CH1) антитела, и введение субъекту второго полинуклеотида (например, мРНК), кодирующего легкую цепь, VL или VL+CL родственного антитела.

В некоторых вариантах осуществления предложен полинуклеотид (например, мРНК), который кодирует тяжелую цепь и легкую цепь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления предложен полинуклеотид (например, мРНК), который кодирует две тяжелые цепи и две легкие цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. См., например, Li, JQ., Zhang, ZR., Zhang, HQ. et al. Intranasal delivery of replicating mRNA encoding neutralizing antibody against SARS-CoV-2 infection in mice. *Sig Transduct Target Ther* 6, 369 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00783-1>, конструкции мРНК, кодирующие антитело, векторы и родственные методики которой включены в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид доставляют субъекту через систему доставки частиц репликона альфавируса (VRP). В некоторых вариантах осуществления репликон включает модифицированный репликон VEEV (вирус

венесуэльского энцефалита лошадей), содержащий два субгеномных промотора. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид или репликон может транслировать одновременно тяжелую цепь (или VH, или VH+1) и легкую цепь (или VL, или VL+CL) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления предложен способ, который включает доставку субъекту такого полинуклеотида или репликона. В дополнительном аспекте настоящее изобретение также относится к клетке-хозяину, экспрессирующей антитело или антигенсвязывающий фрагмент в соответствии с настоящим изобретением; или содержащей или включающей вектор или полинуклеотид в соответствии с настоящим изобретением.

Примеры таких клеток включают, но не ограничиваются, эукариотические клетки, например, дрожжевые клетки, клетки животных, клетки насекомых, клетки растений; и прокариотические клетки, включая *E. coli*. В некоторых вариантах осуществления клетки представляют собой клетки млекопитающих, такие как В-клетки человека. В некоторых таких вариантах осуществления клетки представляют собой клеточную линию млекопитающих, такую как клетки CHO (например, клетки DHFR-CHO (Urlaub et al., PNAS 77:4216 (1980)), эмбриональные клетки почек человека (например, клетки HEK293T), клетки PER.C6, клетки Y0, клетки Sp2/0. Клетки NS0, клетки печени человека, например, клетки Нера RG, клетки миеломы или клетки гибридомы. Другие примеры линий клеток-хозяев млекопитающих включают клетки сертоли мыши (например, клетки TM4); линию CV1 почки обезьяны, трансформированную SV40 (COS-7); клетки почки детеныша хомяка (BHK); клетки почки африканской зеленой обезьяны (VERO-76); клетки почки обезьяны (CV1); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки легкого человека (W138); клетки печени человека (Нер G2); клетки почки собаки (MDCK); клетки печени крысы линии буффало (BRL 3A); опухоль молочной железы мыши (MMT 060562); клетки TRI; клетки MRC-5 и клетки FS4. Линии клеток-хозяев млекопитающих, подходящие для продуцирования антител, также включают те, которые описаны, например, в Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), pp. 255-268 (2003).

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой прокариотическую клетку, такую как *E. coli*. Экспрессия пептидов в прокариотических клетках, таких как *E. coli*, хорошо известна (см., например, Pluckthun, A. *Bio/Technology* 9:545-551 (1991)). Например, антитела можно продуцировать в бактериях, в частности, если гликозилирование и Fc-эффекторные функции не нужны. Экспрессию фрагментов антител и полипептидов в бактериях см., например, в патенте США № 5648237; 5789199; и 5840523.

В частных вариантах осуществления клетка может быть трансфицирована вектором в соответствии с настоящим описанием с вектором экспрессии. Термин «трансфекция» относится к введению молекул нуклеиновых кислот, таких как молекулы ДНК или РНК (например, мРНК), в клетки, такие как эукариотические клетки. В контексте настоящего описания термин «трансфекция» охватывает любой известный специалисту способ введения молекул нуклеиновых кислот в клетки, например, в эукариотические клетки, в том числе в клетки млекопитающих. Такие способы включают, например, электропорацию, липофекцию, например, на основе катионных липидов и/или липосом, осаждение фосфатом кальция, трансфекцию на основе наночастиц, трансфекцию на основе вируса или трансфекцию на основе катионных полимеров, таких как DEAE-декстран или полиэтиленимин и т.д. В некоторых вариантах осуществления введение является невирусным.

Кроме того, клетки-хозяева согласно настоящему изобретению могут быть стабильно или временно трансфицированы вектором согласно настоящему изобретению, например, для экспрессии антитела или его антигенсвязывающего фрагмента согласно настоящему изобретению. В таких вариантах осуществления клетки могут быть стабильно трансфицированы вектором, как описано в настоящем документе. Альтернативно, клетки могут быть временно трансфицированы вектором в соответствии с настоящим изобретением, кодирующим антитело или антигенсвязывающий фрагмент, как описано в настоящем документе. В любом из раскрытых в данном документе вариантов осуществления полинуклеотид может быть гетерологичным по отношению к клетке-хозяину.

Соответственно, настоящее изобретение также относится к рекомбинантным клеткам-хозяевам, которые гетерологично экспрессируют антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению. Например, клетка может быть разновидностью, которая отличается от разновидности, из которой было полностью или частично получено антитело (например, клетки СНО, экспрессирующие человеческое антитело или сконструированное человеческое антитело). В некоторых вариантах осуществления тип клетки для клетки-хозяина не экспрессирует антитело или антигенсвязывающий фрагмент в природе. Кроме того, клетка-хозяин может вносить посттрансляционную модификацию (PTM; например, гликозилирование или фукозилирование), или ее отсутствие, антителу или антигенсвязывающему фрагменту, которая не присутствует в нативном состоянии антитела или антигенсвязывающего фрагмента (или в нативном состоянии исходного антитела, из которого было сконструировано или получено антитело или антигенсвязывающий фрагмент). Такая PTM

или ее отсутствие может привести к функциональной разнице (например, пониженной иммуногенности). Соответственно, антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению, продуцируемые клеткой-хозяином, как описано в настоящем документе, могут содержать одну или более посттрансляционных модификаций, которые отличаются от антитела (или исходного антитела) в его нативном состоянии (например, человеческое антитело, продуцируемое клеткой-хозяином, может содержать одну или более посттрансляционных модификаций или может содержать меньшее количество посттрансляционных модификаций, так, что оно отличается от антитела при выделении из человека и/или при продуцировании нативной В-клеткой человека или плазматической клеткой).

Клетки насекомых, пригодные для экспрессии связывающего белка по настоящему изобретению, известны в данной области техники и включают, например, клетки *Spodoptera frugiperda* Sf9, клетки *Trichoplusia ni* BTI-TN5B1-4 и клетки *Spodoptera frugiperda* SfSWT01 «Mimic<sup>TM</sup>». См., например, Palmberger et al., *J. Biotechnol.* 153(3-4):160-166 (2011). Выявлены многочисленные штаммы бакуловирусов, которые можно использовать в комбинации с клетками насекомых, особенно для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*.

Эукариотические микроорганизмы, такие как нитчатые грибы или дрожжи, также являются подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих белок, и включают грибки и штаммы дрожжей с «гуманизированными» путями гликозилирования, что приводит к получению антитела с частично или полностью человеческим профилем гликозилирования. См. Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004); Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006).

Клетки растений также могут быть использованы в качестве хозяев для экспрессии связывающего белка согласно настоящему изобретению. Например, технология PLANTIBODIES<sup>TM</sup> (описана, например, в патенте США № 5959177; 6040498; 6420548; 7125978 и 6417429) использует трансгенные растения для получения антител.

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин включает клетку млекопитающего. В частных вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой клетку CHO, клетку HEK293, клетку PER.C6, клетку Y0, клетку Sp2/0, клетку NS0, клетку печени человека, клетку миеломы или клетку гибридомы.

В родственном аспекте настоящее изобретение относится к способам получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, где способы включают культивирование клетки-хозяина по настоящему изобретению в условиях и в течение времени, достаточных для получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Способы, пригодные для

выделения и очистки рекомбинантно полученных антител, например, могут включать получение супернатантов из подходящих систем клетка-хозяин/вектор, которые секретируют рекомбинантное антитело в культуральную среду, а затем концентрирование среды с использованием коммерчески доступного фильтра. После концентрирования концентрат может быть нанесен на одну подходящую матрицу очистки или на ряд подходящих матриц, таких как аффинная матрица или ионообменная смола. Для дополнительной очистки рекомбинантного полипептида можно использовать одну или более стадий обращенно-фазовой HPLC (высокоэффективная жидкостная хроматография). Эти способы очистки также могут быть использованы при выделении иммуногена из его природной среды. Способы крупномасштабной продукции одного или более выделенных/рекомбинантных антител, описанных в настоящем документе, включают периодическую культуру клеток, за которой наблюдают и контролируют для поддержания соответствующих условий культивирования. Очистку растворимых антител можно проводить в соответствии со способами, описанными в настоящем документе и известными в данной области техники, и которые соответствуют законам и рекомендациям отечественных и зарубежных регулирующих органов.

#### Композиции

В настоящем документе также предложены композиции, которые содержат антитело, антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор или клетку-хозяина, описанные в настоящем документе, по отдельности или в любой комбинации, и могут дополнительно содержать фармацевтически приемлемый носитель, эксципиент или разбавитель. Таки композиции, а также носители, эксципиенты и разбавители более подробно обсуждаются в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит первый вектор, содержащий первую плазмиду, и второй вектор, содержащий вторую плазмиду, где первая плазида содержит полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь, VH или VH+CH, и вторая плазида содержит полинуклеотид, кодирующий соответствующую легкую цепь, VL или VL+CL антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит полинуклеотид (например, мРНК), связанный с подходящим средством доставки или носителем. Примерные средства или носители для введения субъекту-человеку включают липид или липидное средство доставки, такое как липосома, твердая липидная наночастица, маслянистая суспензия, субмикронная липидная эмульсия, липидный микропузырь, обратная липидная мицелла, кохлеарная липосома, липидная микротрубочка, липидный микроцилиндр или липидная наночастица (LNP) или наноразмерная платформа (см., например, Li et al. *Wiley Interdiscip Rev.*

Nanomed Nanobiotechnol. 11(2):e1530 (2019)). Принципы, реагенты и методики конструирования подходящей мРНК и составления мРНК-LNP и их доставки описаны, например, в Pardi et al. (J Control Release 217345-351 (2015)); Thess et al. (Mol Ther 23: 1456-1464 (2015)); Thran et al. (EMBO Mol Med 9(10):1434-1448 (2017); Kose et al. (Sci. Immunol. 4 eaaw6647 (2019); и Sabnis et al. (Mol. Ther. 26:1509-1519 (2018)), методики которых, включая кэппинг, оптимизацию кодонов, нуклеозидную модификацию, очистку мРНК, включение мРНК в стабильные липидные наночастицы (например, ионизируемый катионный липид/фосфатидилхолин/холестерин/PEG (полиэтиленгликоль)-липид; ионизируемый липид:дистеароил РС (фосфатидилхолин):холестерин:полиэтиленгликолевый липид) и подкожное, внутримышечное, внутрикожное, внутривенное, внутрибрюшинное и интратрахеальное введение того же, включены в настоящий документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит первое антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению и второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению, где первое антитело или антигенсвязывающий фрагмент и второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент являются различными.

#### Способы и применения

В настоящем документе также предложены способы применения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки или композиции по настоящему изобретению при диагностике инфекции IAV (например, у субъекта-человека или в образце, полученном от субъекта-человека). Способы диагностики (например, *in vitro*, *ex vivo*) могут включать приведение антитела, фрагмента антитела (например, антигенсвязывающего фрагмента) в контакт с образцом. Такие образцы могут быть выделены из субъекта, например, выделенный образец ткани, взятый, например, из носовых ходов, полостей пазух, слюнных желез, легких, печени, поджелудочной железы, почек, уха, глаза, плаценты, пищеварительного тракта, сердца, яичников, гипофиза, надпочечников, щитовидной железы, мозга, кожи или крови. Способы диагностики могут также включать обнаружение комплекса антиген/антитело, в частности, после приведения антитела или фрагмента антитела в контакт с образцом. Такая стадия обнаружения может быть выполнена в ламинарном шкафу, то есть без какого-либо приведения в контакт с организмом человека или животного. Примеры способов обнаружения хорошо известны специалисту в данной области техники и включают, например, ELISA, включая прямой, непрямой и сэндвич-ELISA.

В настоящем документе также предложены способы лечения субъекта с

использованием антитела или антигенсвязывающего фрагмента по настоящему изобретению или композиции, содержащей их, где субъект имеет, считается, что имеет, или подвержен риску инфицирования IAV. «Обработка», «лечение» или «облегчение» относится к медицинскому лечению заболевания, расстройства или состояния субъекта (например, человека или млекопитающего, не являющегося человеком, такого как примат, лошадь, кошка, собака, коза, мышь или крыса). Как правило, подходящую дозу или схему лечения, включающую антитело или композицию по настоящему изобретению, вводят в количестве, достаточном для получения терапевтического или профилактического эффекта. Терапевтический или профилактический/превентивный эффект включает улучшение клинического исхода; уменьшение или облегчение симптомов, связанных с заболеванием; уменьшение частоты возникновения симптомов; улучшение качества жизни; более длительный безрецидивный статус; уменьшение степени заболевания, стабилизацию болезненного состояния; задержку или предотвращение прогрессирования заболевания; ремиссию; выживаемость; продолжительную выживаемость или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления терапевтический или профилактический/превентивный эффект включает уменьшение или предотвращение госпитализации при лечении инфекции IAV (т.е. статистически значимым образом). В некоторых вариантах осуществления терапевтический или профилактический/превентивный эффект включает сокращение продолжительности госпитализации при лечении инфекции IAV (т.е. статистически значимым образом). В некоторых вариантах осуществления терапевтический или профилактический/превентивный эффект включает уменьшение или отмену потребности в респираторном вмешательстве, таком как интубация и/или применение респираторного устройства. В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтический или профилактический/превентивный эффект включает реверсию патологии поздней стадии заболевания и/или снижение смертности.

«Терапевтически эффективное количество» или «эффективное количество» антитела, антигенсвязывающего фрагмента, полинуклеотида, вектора, клетки-хозяина или композиции согласно настоящему изобретению относится к количеству композиции или молекулы, достаточному для получения терапевтического эффекта, включая улучшение клинического исхода; уменьшение или облегчение симптомов, связанных с заболеванием; снижение частоты возникновения симптомов; улучшение качества жизни; более длительный безрецидивный статус; уменьшение степени заболевания, стабилизацию состояния заболевания; задержку прогрессирования заболевания; ремиссию; выживаемость; или продолжительное выживание статистически значимым образом. Когда

речь идет об отдельном активном ингредиенте, вводимом отдельно, терапевтически эффективное количество относится к эффектам этого ингредиента или клетки, экспрессирующей этот ингредиент отдельно. Когда речь идет о комбинации, терапевтически эффективное количество относится к объединенным количествам активных ингредиентов или комбинированного вспомогательного активного ингредиента с клеткой, экспрессирующей активный ингредиент, что приводит к терапевтическому эффекту, независимо от того, вводится ли оно серийно, последовательно или одновременно.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения инфекции IAV у субъекта, где способы включают введение указанному субъекту эффективного количества антитела, антигенсвязывающего фрагмента, полинуклеотида, вектора, клетки-хозяина или композиции, как описано в настоящем документе.

Субъекты, которые могут быть подвергнуты лечению согласно настоящему изобретению, являются, в целом, субъектами людьми и другими приматами, такими как мартышки и обезьяны, для целей ветеринарной медицины. Другие модели организмов, такие как мыши и крысы, также могут быть подвергнуты лечению в соответствии с настоящим изобретением. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления субъект может быть субъектом-человеком. Субъекты могут быть мужчинами или женщинами и могут быть любого подходящего возраста, включая младенцев, несовершеннолетних, подростков, взрослых и пожилых субъектов.

Считается, что ряд критериев способствует высокому риску тяжелых симптомов или смерти, связанных с инфекцией IAV. Они включают, но не ограничиваются, возраст, род занятий, общее состояние здоровья, ранее существовавшие состояния здоровья, местоположение и привычки образа жизни. В некоторых вариантах осуществления субъект, получающий лечение в соответствии с настоящим изобретением, имеет один или более факторов риска.

В некоторых вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение в соответствии с настоящим изобретением, представляет собой младенца, ребенка, подростка, взрослого среднего возраста или пожилого человека. В некоторых вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение в соответствии с настоящим изобретением, моложе 1 года, или ему от 1 до 5 лет, или ему от 5 до 125 лет (например, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115 или 125 лет, включая любой и все возрасты в списке или между указанными возрастными). В некоторых вариантах осуществления возраст субъекта-человека, получающего лечение в соответствии с настоящим изобретением, составляет от 0 до 19 лет, от 20 до 44 лет, от 45

до 54 лет, от 55 до 64 лет, от 65 до 74 лет, от 75 до 84 лет или 85 лет или старше. Особому риску могут подвергаться лица среднего и особенно пожилого возраста. В частных вариантах осуществления возраст субъекта-человека составляет от 45 до 54 лет, от 55 до 64 лет, от 65 до 74 лет, от 75 до 84 лет или 85 лет или старше. В некоторых вариантах осуществления субъектом-человеком является мужчина. В некоторых вариантах осуществления субъектом-человеком является женщина.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект, получающий лечение в соответствии с настоящим изобретением, получил вакцину против IAV, и вакцина была признана неэффективной, например, в результате поствакциной инфекции или симптомов у субъекта, в результате клинического диагноза или научных или нормативных критериев.

Профилактика инфицирования вирусом гриппа А относится, в частности, к профилактическим условиям, в которых у субъекта не было диагностировано инфицирование вирусом гриппа А (либо диагноз не был поставлен, либо результаты диагностики были отрицательными) и/или у субъекта не проявляются или не наблюдаются симптомы инфицирования вирусом гриппа А. Профилактика инфекции вирусом гриппа А особенно полезна у субъектов с повышенным риском тяжелого заболевания или осложнений при инфицировании, таких как беременные женщины, дети (такие как дети в возрасте до 59 месяцев), пожилые люди, лица с хроническими заболеваниями (такими как хронические сердечные, легочные, почечные, метаболические, неврологические, печеночные или гематологические заболевания) и лица с иммуносупрессивными состояниями (такими как ВИЧ/СПИД, получающие химиотерапию или стероиды, или злокачественными новообразованиями). Кроме того, профилактика инфекции вирусом гриппа А также особенно полезна у субъектов с повышенным риском заражения вирусом гриппа А, например, из-за повышенного воздействия, например, субъектов, работающих или находящихся в общественных местах, в частности, медицинских работников.

В некоторых вариантах осуществления лечение вводят в качестве периекспозиционной или предэкспозиционной профилактики.

В терапевтических условиях, напротив, субъект, как правило, инфицирован вирусом гриппа А, у него диагностирована инфекция вирусом гриппа А и/или проявляются симптомы инфекции вирусом гриппа А. Следует отметить, что термины «лечение» и «терапия»/«терапевтический» в отношении инфекции вирусом гриппа А могут относиться к (полному) излечению, а также ослаблению/уменьшению инфекции вирусом гриппа А и/или связанных с ней симптомов (например, ослабление/уменьшение

тяжести инфекции и/или симптомов, количества симптомов, продолжительности инфекции и/или симптомов или любой их комбинации).

Следует понимать, что ссылка в настоящем документе на уменьшенное количество и/или тяжесть симптомов, уменьшение которых является результатом введения раскрытой в настоящем документе фармацевтической композиции, описывает сравнение с референсным субъектом, который не получал раскрытую фармацевтическую композицию. Референсным субъектом может быть, например, (i) один и тот же субъект в течение более раннего периода времени (например, предшествующего сезона вируса гриппа А), (ii) субъект того же или аналогичного: возраста или возрастной группы; пола; состояния беременности; хронического медицинского состояния (такого как хронические сердечные, легочные, почечные, метаболические, неврологические, печеночные или гематологические заболевания) или его отсутствия; и/или иммуносупрессивного состояния или его отсутствия; или (iii) типичный субъект в пределах популяции (например, местной, региональной или национальной, включая тот же или аналогичный возраст или возрастной диапазон и/или общее состояние здоровья) в течение сезона вируса гриппа А. Профилактика может определяться, например, невозможностью развития диагностированной инфекции гриппа А и/или отсутствием симптомов, связанных с инфекцией гриппа А, в течение части полного сезона гриппа А или в течение полного сезона гриппа А.

В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективного количества композиции в соответствии с настоящим изобретением субъекту с непосредственным риском инфицирования гриппом А. Непосредственный риск инфицирования гриппом А обычно возникает во время эпидемии гриппа А. Известно, что вирусы гриппа А циркулируют и вызывают сезонные эпидемии заболевания (ВОЗ, Информационный бюллетень по гриппу (сезонный), 6 ноября 2018 г.). В умеренном климате сезонные эпидемии происходят в основном зимой, в то время как в тропических регионах грипп может возникать в течение всего года, вызывая вспышки более нерегулярно. Например, в северном полушарии риск эпидемии гриппа А высок в ноябре, декабре, январе, феврале и марте, в то время как в южном полушарии риск эпидемии гриппа А высок в мае, июне, июле, августе и сентябре.

В некоторых вариантах осуществления лечение и/или предотвращение включают постэкспозиционную профилактику.

В некоторых вариантах осуществления субъект получил, получает или будет получать противовирусный агент. В некоторых вариантах осуществления противовирусный агент включает ингибитор нейраминидазы, ингибитор полимеразы

гриппа или и то, и другое. В некоторых вариантах осуществления противовирусный агент включает осельтамивир, ланамивир, перамивир, занамивир, балоксавир или любую их комбинацию.

Типичные пути введения описанных в настоящем документе композиций включают, без ограничения, пероральный, местный, трансдермальный, ингаляционный, парентеральный, сублингвальный, буккальный, ректальный, вагинальный и интраназальный. Термин «парентеральный», как используется в настоящем документе, включает подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные, внутригрудинный инъекции или методики инфузий. В некоторых вариантах осуществления введение включает введение путем, выбранным из перорального, внутривенного, парентерального, внутрижелудочного, внутривенного, внутрилегочного, внутриректального, интрадермального, внутрибрюшинного, внутриопухолевого, подкожного, местного, трансдермального, внутричерепного, интратекального, интраназального и внутримышечного введения. В частных вариантах осуществления способ включает пероральное введение субъекту антитела, антигенсвязывающего фрагмента, полинуклеотида, вектора, клетки-хозяина или композиции.

Фармацевтические композиции в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения составлены таким образом, чтобы обеспечить биодоступность содержащихся в ней активных ингредиентов при введении композиции пациенту. Композиции, которые будут вводить субъекту или пациенту, могут иметь форму одной или более единиц дозирования, где, например, таблетка может представлять собой единичную единицу дозирования, и контейнер описанного в настоящем документе антитела или антигенсвязывающего агента в аэрозольной форме может содержать множество единиц дозирования. Реальные способы получения таких дозированных форм известны или очевидны специалистам в данной области; например, см. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition (Philadelphia College of Pharmacy and Science, 2000). Композиция, подлежащая введению, в любом случае будет содержать эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента, полинуклеотида, вектора, клетки-хозяина или композиции по настоящему изобретению для лечения заболевания или состояния, представляющего интерес, в соответствии с настоящим изобретением.

Композиция может быть в форме твердого вещества или жидкости. В некоторых вариантах осуществления носитель(-и) являются твердыми частицами, так что композиции находятся, например, в форме таблетки или порошка. Носитель(-и) может быть жидким, причем композиции представляют собой, например, масло для полости рта, инъекционную жидкость или аэрозоль, который можно применять, например, при

ингаляционном введении. Когда фармацевтическая композиция предназначена для перорального введения, она предпочтительно находится либо в твердой, либо в жидкой форме, где полутвердая, полужидкая, суспензионная и гелевая формы включены в формы, рассматриваемые в настоящем документе как твердые или жидкие.

В качестве твердой композиции для перорального введения фармацевтическая композиция может быть составлена в виде порошка, гранулы, прессованной таблетки, пилюли, капсулы, жевательной резинки, облатки или т. п. Такая твердая композиция обычно содержит один или более инертных разбавителей или съедобных носителей. Кроме того, могут присутствовать одно или более из следующих веществ: связующие вещества, такие как карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза, трагакантовая камедь или желатин; эксципиенты, такие как крахмал, лактоза или декстрины, разрыхлители, такие как альгиновая кислота, альгинат натрия, примогель, кукурузный крахмал и т. п.; смазывающие вещества, такие как стеарат магния или стеротекс; скользящие агенты, такие как коллоидный диоксид кремния; подсластители, такие как сахароза или сахарин; ароматизатор, такой как перечная мята, метилсалицилат или апельсиновый ароматизатор; и краситель. Когда композиция находится в форме капсулы, например, желатиновой капсулы, она может содержать, помимо веществ вышеуказанного типа, жидкий носитель, такой как полиэтиленгликоль или масло.

Композиция может быть в форме жидкости, например, эликсира, сиропа, раствора, эмульсии или суспензии. Жидкость может быть предназначена для перорального введения или для доставки путем инъекции, в качестве двух примеров. Если они предназначены для перорального введения, предпочтительные композиции содержат в дополнение к настоящим соединениям один или более подсластителей, консервантов, красящих веществ/красителей и усилителей вкуса. В композицию, предназначенную для введения путем инъекции, могут быть включены одно или более из поверхностно-активного вещества, консерванта, смачивающего агента, диспергирующего агента, суспендирующего агента, буфера, стабилизатора и изотонического агента.

Жидкие фармацевтические композиции, будь то растворы, суспензии или другие подобные формы, могут включать один или более из следующих адьювантов: стерильные разбавители, такие как вода для инъекций, физиологический раствор, предпочтительно физиологический раствор, раствор Рингера, изотонический хлорид натрия, жирные масла, такие как синтетические моно- или диглицериды, которые могут служить растворителем или суспендирующей средой, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие растворители; антибактериальные агенты, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия;

хелатообразующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота; буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты и агенты для достижения тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Парентеральный препарат может быть включен в ампулы, одноразовые шприцы или флакон из стекла или пластика с несколькими дозами. Физиологический раствор является предпочтительным адъювантом. Инъецируемая фармацевтическая композиция, предпочтительно, является стерильной.

Жидкая композиция, предназначенная для парентерального или перорального введения, должна содержать количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента, как описано в настоящем документе, таким образом, чтобы была получена подходящая дозировка. Как правило, это количество составляет по меньшей мере 0,01 % антитела или антигенсвязывающего фрагмента в композиции. Когда оно предназначено для перорального введения, это количество может варьироваться от 0,1 до около 70 % от массы композиции. Некоторые пероральные фармацевтические композиции содержат от около 4 до около 75 % антитела или антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции и препараты согласно настоящему изобретению получали таким образом, что парентеральная единица дозирования содержит от 0,01 до 10 мас.% антитела или антигенсвязывающего фрагмента перед разведением.

Композиция может быть предназначена для местного введения, и в этом случае носитель может подходящим образом включать раствор, эмульсию, мазь или гелевую основу. Основа, например, может содержать одно или более из следующего: петролатум, ланолин, полиэтиленгликоли, пчелиный воск, минеральное масло, разбавители, такие как вода и спирт, и эмульгаторы и стабилизаторы. Загустители могут присутствовать в композиции для местного введения. Если композиция предназначена для трансдермального введения, она может включать трансдермальный пластырь или устройство для ионофореза. Фармацевтическая композиция может быть предназначена для ректального введения, в форме, например, суппозитория, который будет растворяться в прямой кишке и высвобождать лекарственное средство. Композиция для ректального введения может содержать маслянистую основу в качестве подходящего не раздражающего эксципиента. Такие основания включают, без ограничения, ланолин, масло какао и полиэтиленгликоль.

Композиция может содержать различные вещества, которые модифицируют физическую форму твердой или жидкой единицы дозирования. Например, композиция может включать материалы, которые образуют оболочку покрытия вокруг активных ингредиентов. Вещества, которые образуют оболочку покрытия, обычно являются

инертными и могут быть выбраны, например, из сахара, шеллака и других энтеросолюбильных покрывающих агентов. Альтернативно активные ингредиенты могут быть инкапсулированы в желатиновую капсулу. Композиция в твердой или жидкой форме может содержать агент, который связывается с антителом или антигенсвязывающим фрагментом согласно настоящему описанию и тем самым способствует доставке соединения. Подходящие агенты, которые могут действовать в этом качестве, включают моноклональные или поликлональные антитела, один или более белков или липосому. Композиция может состоять по существу из единиц дозирования, которые можно вводить в виде аэрозоля. Термин «аэрозоль» используется для обозначения различных систем, начиная с систем коллоидной природы и кончая системами, состоящими из упаковок под давлением. Доставка может осуществляться сжиженным или сжатым газом или с помощью подходящей насосной системы, которая дозирует активные ингредиенты. Аэрозоли могут доставляться в однофазных, двухфазных или трехфазных системах для доставки активного(-ых) ингредиента(-ов). Доставка аэрозоля включает необходимый контейнер, активаторы, клапаны, субконтейнеры и т. п., которые вместе могут образовывать набор. Специалист в данной области техники без излишних экспериментов может определить предпочтительные аэрозоли.

Следует понимать, что композиции по настоящему изобретению также охватывают молекулы-носители для полинуклеотидов, как описано в настоящем документе (например, липидные наночастицы, наноразмерные платформы доставки и т. п.).

Фармацевтические композиции могут быть получены с помощью методики, хорошо известной в данной области техники. Например, композиция, предназначенная для введения путем инъекции, может быть получена путем комбинирования композиции, которая содержит антитело, его антигенсвязывающий фрагмент или конъюгат антитела, как описано в настоящем документе, и, необязательно, одну или более солей, буферов и/или стабилизаторов, со стерильной дистиллированной водой с образованием раствора. Поверхностно-активное вещество может быть добавлено для облегчения образования гомогенного раствора или суспензии. Поверхностно-активные вещества представляют собой соединения, которые нековалентно взаимодействуют с пептидной композицией таким образом, чтобы облегчить растворение или гомогенную суспензию антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в водной системе доставки.

В целом, подходящая доза и схема лечения обеспечивают композицию(-ии) в количестве, достаточном для обеспечения терапевтического и/или профилактического эффекта (такого, как описано в настоящем документе, включая улучшенный клинический исход (например, снижение частоты, продолжительности или тяжести диареи или

связанного с ней обезвоживания, или воспаления, или более длительной безрецидивной и/или общей выживаемости, или уменьшение тяжести симптомов). Для профилактического применения доза должна быть достаточной для предотвращения, задержки возникновения или уменьшения тяжести заболевания, связанного с заболеванием или расстройством. Профилактический эффект композиций, вводимых в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, может быть определен путем выполнения доклинических (включая исследования на животных *in vitro* и *in vivo*) и клинических исследований и анализа данных, полученных из них, с помощью соответствующих статистических, биологических и клинических способов и методик, все из которых могут быть легко осуществлены специалистом в данной области техники.

Композиции вводят в эффективном количестве (например, для лечения инфекции гриппа), которое будет варьироваться в зависимости от множества факторов, включая активность конкретного применяемого соединения; метаболическую стабильность и продолжительность действия соединения; возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол и диету субъекта; режим и время введения; скорость выведения; комбинацию лекарственного средства; тяжесть конкретного расстройства или состояния; и субъект, проходящий терапию. В некоторых вариантах осуществления после введения терапий в соответствии с составами и способами согласно настоящему изобретению у тестируемых субъектов будет наблюдаться снижение одного или более симптомов, связанных с заболеванием или расстройством, подлежащим лечению, на от около 10 до около 99 % по сравнению с субъектами, получающими плацебо, или другими подходящими контрольными субъектами.

Как правило, терапевтически эффективная доза антитела или антигенсвязывающего фрагмента составляет (для млекопитающего весом 70 кг) от около 0,001 мг/кг (т.е. 0,07 мг) до около 100 мг/кг (т.е. 7,0 г); предпочтительно терапевтически эффективная доза составляет (для млекопитающего весом 70 кг) от около 0,01 мг/кг (т.е. 0,7 мг) до около 50 мг/кг (т.е. 3,5 г); более предпочтительно терапевтически эффективная доза составляет (для млекопитающего весом 70 кг) от около 1 мг/кг (т.е. 70 мг) до около 25 мг/кг (т.е. 1,75 г). Для полинуклеотидов, векторов, клеток-хозяев и связанных композиций по настоящему изобретению терапевтически эффективная доза может отличаться от дозы для антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления способ включает введение антитела, антигенсвязывающего фрагмента, полинуклеотида, вектора, клетки-хозяина или композиции субъекту в количестве 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 раз или более.

В некоторых вариантах осуществления способ включает введение субъекту

антитела, антигенсвязывающего фрагмента или композиции множество раз, где второе или последующее введение осуществляют через около 6, около 7, около 8, около 9, около 10, около 11, около 12, около 24, около 48, около 74, около 96 часов или более после первого или предыдущего введения, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления способ включает введение антитела, антигенсвязывающего фрагмента, полинуклеотида, вектора, клетки-хозяина или композиции по меньшей мере один раз до инфицирования субъекта IAV.

Композиции, содержащие антитело, антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор, клетку-хозяина или композицию по настоящему изобретению, также можно вводить одновременно, до или после введения одного или более других терапевтических агентов. Такая комбинированная терапия может включать введение одной фармацевтической лекарственной формы, которая содержит соединение по изобретению и один или более дополнительных активных агентов, а также введение композиций, содержащих антитело или антигенсвязывающий фрагмент по изобретению и каждый активный агент в своей отдельной лекарственной форме. Например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, как описано в настоящем документе, и другой активный агент можно вводить пациенту вместе в одной пероральной лекарственной композиции, такой как таблетка или капсула, или каждый агент вводить в отдельных пероральных лекарственных формах. Аналогичным образом, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, как описано в настоящем документе, и другой активный агент могут быть введены субъекту вместе в одной парентеральной лекарственной композиции, такой как физиологический раствор или другой физиологически приемлемый раствор, или каждый агент может быть введен в отдельных парентеральных лекарственных формах. В тех случаях, когда используются отдельные лекарственные формы, композиции, содержащие антитело или антигенсвязывающий фрагмент и один или более дополнительных активных агентов, могут быть введены по существу в одно и то же время, то есть одновременно, или в разное время, то есть последовательно и в любом порядке; предполагается, что комбинированная терапия включает все эти схемы.

В некоторых вариантах осуществления антитело (или одна или более нуклеиновых кислот, клеток-хозяев, векторов или композиций) вводят субъекту, который ранее получал одно или более противовоспалительных средств и/или одно или более противовирусных средств. В некоторых вариантах осуществления одно или более противовоспалительных средств и/или одно или более противовирусных средств вводят субъекту, которому ранее вводили антитело (или одну или более нуклеиновых кислот, клеток-хозяев, векторов или композиций).

В связанном аспекте предложены применения описанных в настоящем документе антител, антигенсвязывающих фрагментов, векторов, клеток-хозяев и композиций.

В некоторых вариантах осуществления предлагается антитело, антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор, клетка-хозяин или композиция для применения в способе лечения инфекции IAV у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления предложено антитело, антигенсвязывающий фрагмент, полинуклеотид, вектор, клетка-хозяин или композиция для применения в способе изготовления или получения лекарственного препарата для лечения инфекции IAV у субъекта.

Настоящее изобретение также относится к следующим неограничивающим вариантам осуществления.

Вариант осуществления 1. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющую комплементарность область (CDR) H1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где:

(i) CDRH1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 32, 3 или 15 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три кислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или (ii) CDRH2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 35, 4, 29, 16 и 42 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или (iii) CDRH3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 5 или 17 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или (iv) CDRL1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 9 или 21 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или (v) CDRL2 необязательно содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно

SEQ ID NO: 10 или 22 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или (vi) CDRL3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 11 или 23 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (НА) вируса гриппа А (IAV).

Вариант осуществления 2. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 1, способное связываться с гемагглютинином (НА) вируса гриппа А (IAV) на клеточной поверхности клетки-хозяина и/или на вирионе.

Вариант осуществления 3. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 1 или 2, способное нейтрализовать инфекцию IAV на модели инфекции *in vitro*, и/или на животной модели инфекции *in vivo*, и/или у человека, где, необязательно, указанная модель инфекции *in vitro* включает клетку-мишень и псевдовиром или клетку-мишень и живой вирус.

Вариант осуществления 4. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-3, содержащее аминокислотные последовательности CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 и CDRL3 согласно SEQ ID NO: (i) 32, 35, 5 и 9-11, соответственно; (ii) 3, 29, 5 и 9-11, соответственно; (iii) 32, 4, 5 и 9-11, соответственно; (iv) 3, 35, 5 и 9-11, соответственно; (v) 3-5 и 9-11, соответственно; (vi) 15-17 и 21-23, соответственно; или (vii) 15, 42, 17 и 21-23, соответственно.

Вариант осуществления 5. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-3, содержащее аминокислотные последовательности CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 и CDRL3 согласно SEQ ID NO: (i) 3, 29, 5 и 9-11, соответственно;

(ii) 3, 35, 17 и 9-11, соответственно; или (iii) 32, 35, 17 и 9-11, соответственно.

Вариант осуществления 6. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-5, где:

(i) VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% (например, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более) идентичность аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 и 41, где вариация

последовательности относительно SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 или 41, соответственно, является необязательно ограниченной одной или более каркасными областями, и/или вариация последовательности включает одну или более замен на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или

(ii) VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% (например, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более) идентичность аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 8 или 20, где вариация последовательности относительно SEQ ID NO: 8 или 20, соответственно, является необязательно ограниченной одной или более каркасными областями, и/или вариация последовательности включает одну или более замен на кодируемую зародышевой линией аминокислоту.

Вариант осуществления 7. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-6, где:

(i) VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичность аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 и 41, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичность аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 8; или

(ii) VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичность аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 и 41, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичность аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 20.

Вариант осуществления 8. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-7, где VH и VL содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: (i) 37 и 8, соответственно; (ii) 26 и 8, соответственно; (iii) 28 и 8, соответственно; (iv) 31 и 8, соответственно; (v) 34 и 8, соответственно; (vi) 2 и 8, соответственно; (vii) 14 и 20, соответственно;

(viii) 39 и 20, соответственно; или (ix) 41 и 20, соответственно.

Вариант осуществления 9. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-7, где VH и VL содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: (i) 2 и 20, соответственно; (ii) 26 и 20, соответственно; (iii) 28 и 20, соответственно; (iv) 31 и 20, соответственно; (v) 34 и 20, соответственно; (vi) 37 и 20, соответственно; (v) 14 и 8, соответственно; (vi) 39 и 8, соответственно; или (vii) 41 и 8, соответственно.

Вариант осуществления 10. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 32, 35 и 5, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 9-11, соответственно,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

Вариант осуществления 11. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 3, 29 и 5, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 9-11, соответственно, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

Вариант осуществления 12. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 32, 4 и 5, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 9-11, соответственно, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

Вариант осуществления 13. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 3, 35 и 5, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 9-11, соответственно, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

Вариант осуществления 14. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и

CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 3-5, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 9-11, соответственно, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

Вариант осуществления 15. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 15-17, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 21-23, соответственно, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

Вариант осуществления 16. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 15, 42 и 17, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 21-23, соответственно,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

Вариант осуществления 17. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее: (1) переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 53, аминокислотную последовательность согласно любой из SEQ ID NO: 4, 29 и 35 и аминокислотную последовательность согласно любой из SEQ ID NO: 5 и 17; и (2) переменный домен легкой цепи (VL), содержащий аминокислотные последовательности согласно SEQ ID NO: 9-11, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

Вариант осуществления 18. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), где: (i) VH содержит CDRH1, CDRH2 и CDRH3 в соответствии с аминокислотной последовательностью VH, представленной в любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14,

39 и 41; и (ii) VL содержит CDRL1, CDRL2 и CDRL3 в соответствии с аминокислотной последовательностью VL, представленной в SEQ ID NO: 2, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

Вариант осуществления 19. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL), где: (i) VH содержит CDRH1, CDRH2 и CDRH3 в соответствии с аминокислотной последовательностью VH, представленной в любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 и 41; и (ii) VL содержит CDRL1, CDRL2 и CDRL3 в соответствии с аминокислотной последовательностью VL, представленной в SEQ ID NO: 8,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

Вариант осуществления 20. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 18 или 19, где CDR соответствуют системе нумерации IMGT.

Вариант осуществления 21. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 18 или 19, где CDR соответствуют системе нумерации Kabat.

Вариант осуществления 22. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 18 или 19, где CDR соответствуют системе нумерации Chothia.

Вариант осуществления 23. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 18 или 19, где CDR соответствуют системе нумерации AHO.

Вариант осуществления 24. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 18 или 19, где CDR соответствуют системе нумерации North.

Вариант осуществления 25. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 18 или 19, где CDR соответствуют системе нумерации Martin.

Вариант осуществления 26. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-25, где VH кодируется или происходит от VH6-1, DH3-3 и JH6, и/или VL кодируется или происходит от VK3-20 и JK3.

Вариант осуществления 27. Антитело к гемагглютину (HA) вируса гриппа или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 37, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 8.

Вариант осуществления 28. Антитело к гемагглютину (HA) вируса гриппа или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL), где VH содержит или состоит из



аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 41, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 20.

Вариант осуществления 36. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-35, способное предотвращать и/или ослаблять инфекцию: (i) H1N1 IAV, где, необязательно, H1N1 IAV включает A/PR8/34; и/или (ii) H3N2 IAV, где, необязательно, H3N2 IAV включает A/Hong Kong/68.

Вариант осуществления 37. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-36, способное предотвращать или снижать потерю массы у субъекта, имеющего инфекцию IAV, необязательно в течение (i) вплоть до 15 дней или (ii) в течение 15 дней или более после введения эффективного количества антитела или антигенсвязывающего фрагмента, где предотвращение или снижение потери массы представлено относительно не получавшего лечения референсного субъекта, имеющего инфекцию IAV.

Вариант осуществления 38. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-37, способное предотвращать потерю массы тела более 10 % у субъекта, имеющего инфекцию IAV, где потерю массы тела определяют относительно массы тела субъекта непосредственно до инфекции IAV или на ранней стадии инфекции IAV.

Вариант осуществления 39. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-38, способное продлевать выживаемость субъекта, имеющего инфекцию IAV, по сравнению с выживаемостью не получавшего лечения референсного субъекта, имеющего инфекцию IAV.

Вариант осуществления 40. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-39, имеющее период полувыведения *in vivo* у мыши (например, мыши tg32):

(i) в диапазоне от около 7 до около 12,2 дней, от около 8 до около 11 дней, от около 8,5 до около 10,5 дней или от около 9 до около 10,5 дней; (ii) от 8 до 11 дней, или от 8,5 до 10,5 дней, или от 9 до 10 дней; (iii) 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9, 9,0, 9,1, 9,2, 9,3, 9,4, 9,5, 9,6, 9,7, 9,8, 9,9, 10,0, 10,1, 10,2, 10,3, 10,4, 10,5, 10,6, 10,7, 10,8, 10,9, 11,0, 11,1, 11,2, 11,3, 11,4, 11,5, 11,6, 11,7, 11,8, 11,9, 12,0, 12,1 или 12,2 дней; (iv) в диапазоне от около 9,5 до около 12,5 дней, от около 10 до 11,5 дней; (v) от 10 до 11 дней или от 10,5 до 11 дней; (vi) от 10 до 11,5 дней, или от 10,5 до 11 дней, или от 10 до 11 дней; и/или (vii) 9,5, 9,6, 9,7, 9,8, 9,9, 10,0, 10,1, 10,2, 10,3, 10,4, 10,5, 10,6, 10,7, 10,8, 10,9, 11,0, 11,1, 11,2, 11,3, 11,4, 11,5, 11,6, 11,7, 11,8, 11,9, 12,0, 12,1, 12,2, 12,3, 12,4 или 12,5 дней.

Вариант осуществления 41. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно

любому из вариантов осуществления 1-40, специфически связывающееся с НА и не связывающееся или специфически не связывающееся с мишенью, отличной от НА.

Вариант осуществления 42. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-41, способное связываться с одним или более следующих подтипов IAV: H1, H2, H3, H4, H5, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H17 и H18.

Вариант осуществления 43. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-42, способное предотвращать или ослаблять инфекцию IAV у субъекта.

Вариант осуществления 44. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-43, способное нейтрализовать инфекцию: (i) H1N1 IAV, где, необязательно, H1N1 IAV включает одно или более из: A/California/07/2009, A/PR/8/34 и A/Solomon Islands/3/06; и (ii) H3N2 IAV, где, необязательно, H3N2 IAV включает одно или более из: A/Aichi/2/68, A/Brisbane/10/07 и A/Hong Kong/68.

Вариант осуществления 45. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-44, способное:

(iii) нейтрализовать инфекцию H1N1 IAV, необязательно A/California/07/2009, с IC50 в диапазоне от около  $10^3$  до около  $10^4$  нг/мл, необязательно в диапазоне от 2000 до 6000 нг/мл (например, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500 или 6000 нг/мл); и/или

(iv) нейтрализовать инфекцию H3N2 IAV, необязательно A/Aichi/2/68, с IC50 в диапазоне от  $10^3$  до  $10^4$  нг/мл, необязательно в диапазоне от 3000 до 10000 нг/мл.

Вариант осуществления 46. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-45, способное нейтрализовать инфекцию: (i) IAV группы 1, где, необязательно, IAV группы 1 включает или представляет собой H5 IAV, где, дополнительно необязательно, IAV H5 включает или представляет собой H5/VN/11/94 pp; и (ii) IAV группы 2, где, необязательно, IAV группы 2 включает или представляет собой H7 IAV, где, дополнительно необязательно, IAV H7 включает или представляет собой H7/IT/99 pp, где, необязательно, нейтрализация инфекции является такой, как определено с применением вируса, псевдотипированного IAV.

Вариант осуществления 47. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 46, способное: (iii) нейтрализовать инфекцию IAV группы 1, необязательно H5/VN/11/94, с IC50 в диапазоне от около 1 до около 8 нг/мл (например, около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 нг/мл); и (iv) нейтрализовать инфекцию IAV группы 2, необязательно H7/IT/99 pp, с IC50 в диапазоне от около 10 до около 200 нг/мл.

Вариант осуществления 48. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-47, способное активировать FcγRIIIa человека, который необязательно представляет собой аллель F158.

Вариант осуществления 49. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-48, способное активировать FcγRIIIa человека, который необязательно представляет собой аллель H131.

Вариант осуществления 50. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 48 или 49, где активация является такой, как определено с применением клетки-хозяина (необязательно клетки Jurkat), содержащей: (i) (a) FcγRIIIa человека (необязательно аллель F158) и/или (b) FcγRIIIa человека (необязательно аллель H131); и (ii) последовательность контроля экспрессии NFAT, функционально связанную с последовательностью, кодирующей репортер, такой как репортер люциферазы,

после инкубации (например, в течение 20 часов) антитела или антигенсвязывающего фрагмента с клеткой-мишенью (например, клеткой A549), инфицированной IAV.

Вариант осуществления 51. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 50, где активация является такой, как определено после инкубации антитела или антигенсвязывающего фрагмента с: (1) клеткой-мишенью, инфицированной H1N1 IAV, где, необязательно, H1N1 IAV представляет собой A/PR/8/34, и где, необязательно, инфекция имеет множественность заражения (MOI), равную 6; и/или (2) клеткой-мишенью, инфицированной H3N2 IAV, где, необязательно, H3N2 IAV представляет собой A/Aichi/2/68, и где, необязательно, инфекция имеет множественность заражения (MOI), равную 18.

Вариант осуществления 52. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-51, способное нейтрализовать инфекцию псевдовирусом H5 с IC50 менее 4,5 нг/мл, 4,0 нг/мл или менее, 3,0 нг/мл или менее, 2,5 нг/мл или менее, 2,0 нг/мл или менее, 1,5 нг/мл или менее, 1,0 нг/мл или менее, 0,9 нг/мл или менее, 0,8 нг/мл или менее, 0,7 нг/мл или менее, 0,6 нг/мл или менее, 0,5 нг/мл или менее, 0,4 нг/мл или менее, 0,3 нг/мл или менее или 0,2 нг/мл или менее.

Вариант осуществления 53. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-52, способное нейтрализовать инфекцию псевдовирусом H5 с IC50 в диапазоне: от около 0,2 до около 4,5 нг/мл, или от около 0,2 до около 4,0 нг/мл, или от около 0,2 до около 3,5 нг/мл, или от около 0,2 до около 3,0 нг/мл, или от около 0,2 до около 2,5 нг/мл, или от около 0,2 до около 2,0 нг/мл, или от около 0,2 до около 1,5 нг/мл, или от около 0,2 до около 1,0 нг/мл, или от около 0,2 до около

0,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 4,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 4,0 нг/мл, или от около 0,5 до около 3,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 3,0 нг/мл, или от около 0,5 до около 2,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 2,0 нг/мл, или от около 0,5 до около 1,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 1,0 нг/мл, или от около 1,0 до около 4,5 нг/мл, или от около 1,0 до около 4,0 нг/мл, или от около 1,0 до около 3,5 нг/мл, или от около 1,0 до около 3,0 нг/мл, или от около 1,0 до около 2,5 нг/мл, или от около 1,0 до около 2,0 нг/мл, или от около 1,0 до около 1,5 нг/мл, или от около 1,5 до около 4,5 нг/мл, или от около 1,5 до около 4,0 нг/мл, или от около 1,5 до около 3,5 нг/мл, или от около 1,5 до около 3,0 нг/мл, или от около 1,5 до около 2,5 нг/мл, или от около 1,5 до около 2,0 нг/мл, или от около 2,0 до около 4,5 нг/мл, или от около 2,0 до около 4,0 нг/мл, или от около 2,0 до около 3,5 нг/мл, или от около 2,0 до около 3,0 нг/мл, или от около 2,0 до около 2,5 нг/мл, или от около 2,5 до около 4,5 нг/мл, или от около 2,5 до около 4,0 нг/мл, или от около 2,5 до около 3,5 нг/мл, или от около 2,5 до около 3,0 нг/мл, или от около 3,0 до около 4,5 нг/мл, или от около 3,0 до около 4,0 нг/мл, или от около 3,0 до около 3,5 нг/мл, или от около 3,5 до около 4,5 нг/мл, или от около 3,5 до около 4,0 нг/мл, или от около 4,0 до около 4,5 нг/мл.

Вариант осуществления 54. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-53, способное нейтрализовать инфекцию псевдовиромом H5 с IC50 около 0,6 нг/мл, около 0,5 нг/мл, около 0,4 нг/мл, около 0,3 нг/мл или около 0,2 нг/мл.

Вариант осуществления 55. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-54, способное нейтрализовать инфекцию псевдовиромом H5 с IC50 0,7 нг/мл или менее, 0,6 нг/мл или менее, 0,5 нг/мл или менее, 0,4 нг/мл или менее, 0,3 нг/мл или менее или 0,20 нг/мл или менее.

Вариант осуществления 56. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-55, способное нейтрализовать инфекцию: (i) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 850 до около 4500 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1000 до около 5400 нг/мл; и/или (ii) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 300 до около 2800 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 7600 нг/мл.

Вариант осуществления 57. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-56, способное нейтрализовать инфекцию: (i) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 880 до около 1120 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1050 до около 1680 нг/мл; (ii) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 300 до около 2100 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 2700 нг/мл; (iii) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 1100 до около 2700 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около

1040 до около 4540 нг/мл;

(iv) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 500 до около 2420 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 680 до около 4570 нг/мл; (v) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 1030 до около 1680 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1780 до около 4760 нг/мл; (vi) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 440 до около 2540 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 450 до около 4250 нг/мл; (vii) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 1950 до около 2000 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 2420 до около 5400 нг/мл; и/или (viii) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 880 до около 2820 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1170 до около 7630 нг/мл.

Вариант осуществления 58. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-57, способное нейтрализовать инфекцию: (i) H1N1 A/PR/8/34 IAV с IC50 в диапазоне от около 850 до около 2000 нг/мл (например, около 880 нг/мл, около 1000 нг/мл, около 1100 нг/мл, около 2000 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 1050 до около 2400 нг/мл (например, около 1050 нг/мл, около 1850 нг/мл, около 1780 нг/мл, около 2400 нг/мл); (ii) H1N1 A/Solomon Islands/3/06 IAV с IC50 в диапазоне от около 1100 до около 2700 нг/мл (например, около 1100 нг/мл, около 1680 нг/мл, около 1950 нг/мл, около 2700 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 1680 до около 5400 нг/мл (например, около 1680 нг/мл, около 4500 нг/мл, около 4700 нг/мл, около 5400 нг/мл); (iii) H3N2 A/Aichi/2/68 IAV с IC50 в диапазоне от около 2100 до около 2900 нг/мл (например, около 2100 нг/мл, около 2400 нг/мл, около 2500 нг/мл, около 2800 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 2700 до около 7600 нг/мл (например, около 2700 нг/мл, около 4200, около 4500 нг/мл, около 7600 нг/мл); (iv) H3N2 A/Brisbane/10/07 IAV с IC50 в диапазоне от около 300 до около 880 нг/мл (например, около 300 нг/мл, около 440 нг/мл, около 500 нг/мл, около 880 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 1200 нг/мл (например, около 350 нг/мл, около 450 нг/мл, около 680 нг/мл, около 1200 нг/мл); (v) H1N1 A/CAL/09 IAV с IC50 в диапазоне от около 3100 до около 4500 нг/мл (например, около 3100 нг/мл, около 3600 нг/мл, около 4300 нг/мл, около 4500 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 1200 нг/мл (например, около 350 нг/мл, около 450 нг/мл, около 680 нг/мл, около 1200 нг/мл); и/или (vi) H3N2 A/HK/68 IAV с IC50 в диапазоне от около 2000 до около 3000 нг/мл (например, около 2000 нг/мл, около 2100 нг/мл, около 2200 нг/мл, около 2300 нг/мл, около 2400 нг/мл, около 2500 нг/мл, около 2600 нг/мл, около 2700 нг/мл, около 2800 нг/мл, около 2900 нг/мл, около 3000 нг/мл), предпочтительно в диапазоне от около 2100 до около 2500 нг/мл.

Вариант осуществления 59. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-58, способное нейтрализовать инфекцию: (i) H1N1

A/PR/8/34 IAV с IC50 в диапазоне: от около 860 до около 920 нг/мл, от около 1000 до около 1060 нг/мл, от около 1080 до около 1140 нг/мл, или от около 1970 до около 2030 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне: от около 1015 до около 1075 нг/мл, от около 1750 до около 1810 нг/мл, от около 1750 до около 1830 нг/мл, или от около 2390 до около 2450 нг/мл; (ii) H1N1 A/Solomon Islands/3/06 IAV с IC50 в диапазоне от около 1100 до около 2700 нг/мл (например, около 1100 нг/мл, около 1680 нг/мл, около 1950 нг/мл, около 2700 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 1680 до около 5400 нг/мл (например, около 1680 нг/мл, около 4500 нг/мл, около 4700 нг/мл, около 5400 нг/мл); (iii) H3N2 A/Aichi/2/68 IAV с IC50 в диапазоне от около 2100 до около 2900 нг/мл (например, около 2100 нг/мл, около 2400 нг/мл, около 2800 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 2700 до около 7600 нг/мл (например, около 2700 нг/мл, около 4200, около 4500 нг/мл, около 7600 нг/мл); и/или (iv) H3N3 A/Brisbane/10/07 IAV с IC50 в диапазоне от около 300 до около 880 нг/мл (например, около 300 нг/мл, около 440 нг/мл, около 500 нг/мл, около 88 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 1200 нг/мл (например, около 350 нг/мл, около 450 нг/мл, около 680 нг/мл, около 1200 нг/мл).

Вариант осуществления 60. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-59, способное связываться с одним или более из следующих подтипов IAV H3N2: A/Babol/36/2005; A/Hong Kong/CUHK31987/2011; A/Texas/50/2012; A/Wisconsin/67/2005; A/Netherlands/178/1995; A/Johannesburg/33/1994; A/Guangdong-Luohu/1256/2009; A/California/7/2004; A/Hanoi/EL134/2008; A/Wuhan/359/1995; A/Victoria/210/2009; A/Philippines/472/2002; A/Hanoi/EL201/2009; A/Victoria/210/2009; A/Missouri/09/2014; A/Perth/16/2009; A/Wyoming/03/2003; A/Moscow/10/1999; A/Sydney/5/1997; A/Nanchang/933/1995; A/Beijing/32/92; A/Aichi/2/1968; A/Brisbane/10/2007 и A/Switzerland/9715293/2013.

Вариант осуществления 61. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 60, способное связываться с одним или более подтипами IAV H3N2 с logEC50 (нг/мл) в диапазоне от около 0,1 до около 6, от около 0,1 до около 5,5, от около 1 до около 5, от около 0,1 до около 4,5, от около 0,1 до около 4,0, от около 0,1 до около 3,5, от около 0,1 до около 3, от около 0,1 до около 2,5, от около 0,1 до около 2,0, от 0,1 до около 1,5, от 0,1 до около 1,0 или около 1,9, около 1,8, около 1,7, около 1,6, около 1,5, около 1,4, около 1,3, около 1,2, около 1,1, около 1,0, около 0,9, около 0,8, около 0,7, около 0,6, около 0,5, около 0,4, около 0,3, около 0,2 или около 0,1 нг/мл,

где связывание является таким, как определено с помощью ELISA.

Вариант осуществления 62. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-61, способное связываться с одним или более из

(i)-(iv): (i) H1 HA, необязательно включающий одно или более из: A/England/195/2009; A/Brisbane/59/2007; A/Solomon Islands/3/2006; A/New Caledonia/20/99; A/Texas/36/1991; A/Taiwan/01/1986; A/New Jersey/8/1976; A/Albany/12/1951; A/Fort Monmouth/1/1947; A/New York/1/1918; A/Puerto Rico/8/34 и A/California/07/2009; (ii) H2 HA, необязательно включающий A/Japan/305/1957;

(iii) H5 HA, необязательно включающий A/Vietnam/1194/2004; и (iv) H9 HA, необязательно включающий A/Hong Kong/1073/99.

Вариант осуществления 63. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-62, связывающееся с H5 HA и/или H7 HA с KD менее  $1,0E-12$  M, менее  $1,0E-11$  M, менее  $1,0E-10$  M, менее  $1,0E-9$  M, менее  $1,0E-8$  M или менее  $1,0E-7$  M, или  $1,0E-8$  M или менее,  $1,0E-9$  M или менее,  $1,0E-10$  или менее,  $1,0E-11$  или менее или  $1,0E-12$  или менее (например, как определено с помощью биослойной интерферометрии (BLI)).

Вариант осуществления 64. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 62, которое способное связываться с одним или более из (i)-(iv) с  $\log EC_{50}$  (нг/мл) в диапазоне: от около 0,05 до около 1,5, от около 0,05 до около 1,4, от около 0,05 до около 1,3, от около 0,05 до около 1,2, от около 0,05 до около 1,1, от около 0,05 до около 1,0, от около 0,05 до около 0,9, от около 0,05 до около 0,8, от около 0,05 до около 0,7, от около 0,05 до около 0,6, от около 0,05 до около 0,5, от около 0,1 до около 1, или около 1,3, около 1,2, около 1,1, около 1,0, около 0,9, около 0,8, около 0,7, около 0,6, около 0,5, около 0,4, около 0,3, около 0,2, около 0,1 или около 0,05,

где связывание является таким, как определено с помощью ELISA.

Вариант осуществления 65. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-64, представляющее собой изотип IgG, IgA, IgM, IgE или IgD.

Вариант осуществления 66. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-65, представляющее собой изотип IgG, выбранный из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

Вариант осуществления 67. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-66, являющееся человеческим, гуманизированными или химерными.

Вариант осуществления 68. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-67, включающее человеческое антитело, моноклональное антитело, очищенное антитело, одноцепочечное антитело, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> или Fv, такой как scFv.

Вариант осуществления 69. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-68, представляющее собой мультиспецифическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент.

Вариант осуществления 70. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 69, представляющее собой биспецифическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент.

Вариант осуществления 71. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-70, дополнительно содержащее полипептид Fc или его фрагмент, где, необязательно, полипептид Fc или его фрагмент представляет собой изотип IgG1.

Вариант осуществления 72. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 71, где полипептид Fc или его фрагмент содержит: (i) мутацию, увеличивающую период полувыведения *in vivo* антитела или антигенсвязывающего фрагмента, по сравнению с антителом или антигенсвязывающим фрагментом, содержащим референсный (например, нативный того же изотипа) полипептид Fc или его фрагмент, который не содержит указанную мутацию; и/или

(ii) мутацию, увеличивающую аффинность связывания с FcγR человека (например, FcγRIIa и/или FcγRIIIa), по сравнению с референсным полипептидом Fc, который не содержит указанную мутацию.

Вариант осуществления 73. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 72, где мутация, увеличивающая период полувыведения *in vivo* антитела или антигенсвязывающего фрагмента, включает: M428L; N434S; N434H; N434A; N434S; M252Y; S254T; T256E; T250Q; P257I; Q311I; D376V; T307A; E380A или любую их комбинацию,

где нумерация аминокислот Fc соответствует системе нумерации EU.

Вариант осуществления 74. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно варианту осуществления 72 или 73, где мутация, увеличивающая период полувыведения *in vivo* антитела или антигенсвязывающего фрагмента, включает: (i) M428L/N434S;

(ii) M252Y/S254T/T256E;

(iii) T250Q/M428L; (iv) P257I/Q311I; (v) P257I/N434H; (vi) D376V/N434H;

(vii) T307A/E380A/N434A; или (viii) любую комбинацию (i)-(vii).

Вариант осуществления 75. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 72-74, где мутация, увеличивающая период полувыведения *in vivo*, включает M428L/N434S.

Вариант осуществления 76. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно

любому из вариантов осуществления 72-75, где мутация, увеличивающая связывание с FcγR, включает S239D; I332E; A330L; G236A или любую их комбинацию,

где нумерация аминокислот Fc соответствует системе нумерации EU.

Вариант осуществления 77. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 72-76, где мутация, увеличивающая связывание с FcγR, включает:

(i) S239D/I332E; (ii) S239D/A330L/I332E; (iii) G236A/S239D/I332E; или  
(iv) G236A/A330L/I332E, необязательно не включающая S239D, дополнительно необязательно включающая S в положении 239.

Вариант осуществления 78. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-77, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент:

(i) содержит мутацию, изменяющую гликозилирование, включающую N297A, N297Q или N297G; и/или  
(ii) является агликозилированным и/или афукозилированным.

Вариант осуществления 79. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-78, содержащее CH1-CH3, содержащих или состоящих из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 47 или 49.

Вариант осуществления 80. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-79, содержащее CL, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 48.

Вариант осуществления 81. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее две тяжелые цепи и две легкие цепи, где:

(i) каждая из двух тяжелых цепей содержит или состоит из (1) варибельного домена тяжелой цепи (VH), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 37, и (2) CH1-CH3, содержащих или состоящих из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 47 или 49; и

(ii) каждая из двух легких цепей содержит или состоит из (1) варибельного домена легкой цепи (VL), где VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8, и (2) CL, содержащей или состоящей из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 48.

Вариант осуществления 82. Выделенный полинуклеотид, кодирующий антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-81 или кодирующий VH, тяжелую цепь, VL и/или легкую цепь антитела или

антигенсвязывающего фрагмента.

Вариант осуществления 83. Выделенный полинуклеотид согласно варианту осуществления 82, содержащий дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) или рибонуклеиновую кислоту (РНК), где РНК необязательно включает матричную РНК (мРНК).

Вариант осуществления 84. Полинуклеотид согласно варианту осуществления 82 или 83, содержащий модифицированный нуклеозид, структуру кэп-1, структуру кэп-2 или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 85. Полинуклеотид согласно варианту осуществления 84, содержащий псевдоуридин, N6-метиладенонзин, 5-метилцитидин, 2-тиоуридин или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 86. Полинуклеотид согласно варианту осуществления 85, где псевдоуридин включает N1-метилпсевдоуридин.

Вариант осуществления 87. Полинуклеотид согласно любому из вариантов осуществления 82-86, являющийся кодон-оптимизированным для экспрессии в клетке-хозяине.

Вариант осуществления 88. Полинуклеотид согласно варианту осуществления 87, где клетка-хозяин включает человеческую клетку.

Вариант осуществления 89. Полинуклеотид согласно любому из вариантов осуществления 82-88, содержащий полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 50% (например, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более) идентичность полинуклеотидной последовательности согласно одной или более из SEQ ID NO: 1, 6, 7, 12, 25, 27, 30, 33, 36, 13, 18, 19, 24, 38 и 40.

Вариант осуществления 90. Полинуклеотид согласно любому из вариантов реализации 82-89, включающий: (i) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 6, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 12; (ii) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 25, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 12; (iii) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 27, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75%

идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 12; (iv) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 30, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 12; (v) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 33, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 12; (vi) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 36, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 12; (vii) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 18, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 24; (viii) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 38, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 24; или (ix) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 40, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 24.

Вариант осуществления 91. Рекомбинантный вектор, содержащий полинуклеотид согласно любому из вариантов осуществления 82-90.

Вариант осуществления 92. Клетка-хозяин, содержащая полинуклеотид согласно любому из вариантов осуществления 82-90 и/или вектор согласно варианту осуществления 91, где полинуклеотид является гетерологичным по отношению к клетке-хозяину, и где клетка-хозяин способна экспрессировать кодируемое антитело или антигенсвязывающий фрагмент.

Вариант осуществления 93. Выделенная В-клетка человека, содержащая

полинуклеотид согласно любому из вариантов осуществления 82-90 и/или вектор согласно варианту осуществления 91, где полинуклеотид является гетерологичным по отношению к В-клетке человека, и/или где В-клетка человека является иммортализованной.

Вариант осуществления 94. Композиция, содержащая: (i) антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-81; (ii) полинуклеотид согласно любому из вариантов осуществления 82-90; (iii) рекомбинантный вектор согласно варианту осуществления 91;

(iv) клетку-хозяина согласно варианту осуществления 92 и/или (v) В-клетку человека согласно варианту осуществления 93,

и фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель или разбавитель.

Вариант осуществления 95. Композиция согласно варианту осуществления 94, содержащая первое антитело или антигенсвязывающий фрагмент и второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент, где каждое из первого антитела или антигенсвязывающего фрагмента и второго антитела или антигенсвязывающего фрагмента являются различным, и каждое независимо соответствует любому из вариантов осуществления 1-81.

Вариант осуществления 96. Композиция, содержащая полинуклеотид согласно любому из вариантов осуществления 82-90 или вектор согласно варианту осуществления 91, инкапсулированный в молекулу-носитель, где молекула-носитель необязательно включает липид, средство доставки, полученное из липида, такое как липосома, твердая липидная наночастица, маслянистая суспензия, субмикронная липидная эмульсия, липидный микропузырь, обратная липидная мицелла, кохлеарная липосома, липидная микротрубочка, липидный микроцилиндр, липидная наночастица (LNP) или наноразмерная платформа.

Вариант осуществления 97. Способ получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента согласно любому из вариантов осуществления 1-81, включающий культивирование клетки-хозяина согласно варианту осуществления 92 или В-клетки человека согласно варианту осуществления 93 в течение времени и в условиях, достаточных для экспрессии антитела или антигенсвязывающего фрагмента указанной клеткой-хозяином или В-клеткой человека.

Вариант осуществления 98. Способ согласно варианту осуществления 97, дополнительно включающий выделение антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

Вариант осуществления 99. Способ лечения или предотвращения инфекции вирусом гриппа А у субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного

количества:

- (i) антитела или антигенсвязывающего фрагмента согласно любому из вариантов осуществления 1-81;
- (ii) полинуклеотида согласно любому из вариантов осуществления 82-90;
- (iii) рекомбинантного вектора согласно варианту осуществления 91;
- (iv) клетки-хозяина согласно варианту осуществления 92;
- (v) В-клетки человека согласно варианту осуществления 93 и/или
- (vi) композиции согласно любому из вариантов осуществления 94-96.

Вариант осуществления 100. Способ лечения или предотвращения инфекции гриппа у субъекта-человека, включающий введение указанному субъекту полинуклеотида согласно любому из вариантов осуществления 82-90, рекомбинантного вектора согласно варианту осуществления 91 или композиции согласно варианту осуществления 96, где полинуклеотид содержит мРНК.

Вариант осуществления 101. Способ согласно варианту осуществления 100, где инфекция гриппа включает инфекцию IAV.

Вариант осуществления 102. Способ согласно любому из вариантов осуществления 99-101, включающий введение субъекту однократной дозы антитела или антигенсвязывающего фрагмента, полипептида, полинуклеотида, рекомбинантного вектора, клетки-хозяина или композиции.

Вариант осуществления 103. Способ согласно любому из вариантов осуществления 99-102, включающий введение субъекту двух или более доз антитела или антигенсвязывающего фрагмента, полипептида, полинуклеотида, рекомбинантного вектора, клетки-хозяина или композиции.

Вариант осуществления 104. Способ согласно любому из вариантов осуществления 99-103, включающий введение субъекту дозы антитела или антигенсвязывающего фрагмента, полипептида, полинуклеотида, рекомбинантного вектора, клетки-хозяина или композиции один раз в течение года, необязательно до или во время сезона гриппа.

Вариант осуществления 105. Способ согласно любому из вариантов осуществления 99-103, включающий введение субъекту дозы антитела или антигенсвязывающего фрагмента, полипептида, полинуклеотида, рекомбинантного вектора, клетки-хозяина или композиции два или более раз в течение года; например, примерно один раз в 6 месяцев.

Вариант осуществления 106. Способ согласно любому из вариантов осуществления 99-105, включающий введение антитела или антигенсвязывающего фрагмента, полипептида, полинуклеотида, рекомбинантного вектора, клетки-хозяина или композиции внутримышечно, подкожно или внутривенно.

Вариант осуществления 107. Способ согласно любому из вариантов осуществления 99-106, где лечение и/или предотвращение включает постэкспозиционную профилактику.

Вариант осуществления 108. Способ согласно любому из вариантов осуществления 99-107, где субъект получил, получает или будет получать противовирусный агент.

Вариант осуществления 109. Способ согласно варианту осуществления 108, где противовирусный агент включает ингибитор нейраминидазы, ингибитор полимеразы гриппа или и то, и другое.

Вариант осуществления 110. Способ согласно варианту осуществления 108 или 109, где противовирусный агент включает осельтамивир, занамивир, балоксавир или любую их комбинацию.

Вариант осуществления 111. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-81, полинуклеотид согласно любому из вариантов осуществления 82-90, рекомбинантный вектор согласно варианту осуществления 91, клетка-хозяин согласно варианту осуществления 92, В-клетка человека согласно варианту осуществления 93 и/или композиция согласно любому из вариантов осуществления 94-96, используемые в способе лечения или предотвращения инфекции вирусом гриппа А у субъекта.

Вариант осуществления 112. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент согласно любому из вариантов осуществления 1-81, полинуклеотид согласно любому из вариантов осуществления 82-90, рекомбинантный вектор согласно варианту осуществления 91, клетка-хозяин согласно варианту осуществления 92, В-клетка человека согласно варианту осуществления 93 и/или композиция согласно любому из вариантов осуществления 94-96, используемые в получении лекарственного препарата для лечения инфекции вирусом гриппа у субъекта.

Вариант осуществления 113. Способ диагностики инфекции вирусом гриппа А *in vitro*, включающий:

- (i) приведение в контакт образца, полученного от субъекта, с антителом или антигенсвязывающим фрагментом согласно любому из вариантов осуществления 1-81 и
- (ii) обнаружение комплекса, содержащего антиген и антитело или содержащего антиген и антигенсвязывающий фрагмент.

Таблица 1. Таблица некоторых последовательностей и номеров SEQ ID:

SEQ ID NO	Последовательность	Идентификатор
-----------	--------------------	---------------

1	CAGGTACAACCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGG TGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCAGTCACCTGTGGC ATCTCCGGGGACAGTGTCTCTAGTCACAGTGCT GCTTGGAACTGGATCAGGCAGTCCCCATCGAGAG GCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACATATTACAGGTC CAAGTGGTATAATGATTATGCAGTCTCTGTGAAA AGTCGAATAACCATCAATCCAGACACATCCAAGA ACCAGTTCTCCCTACAGTTGATCTCTGTGACTCCC GAGGACACGGCTGTCTATTACTGTGCAAGAGTGG GTGCTATGACTTTTGGACTTCTTACAGGGGGTA TGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGT CTCCTCA	FHF11 VH (wt-nt)
2	QVQLQQSGPGLVKPSQTLVTCGISGDSVSSHSAAW NWIRQSPSRGLEWLGR <b>TYYRSKWY</b> NDYAVSVKSRI TINPDTSKNQFSLQLISVTPEDTAVYY <b>CARVGAMTF</b> <b>GLLTGGMDV</b> WGQGTTVTVSS	FHF11 VH (aa)
3	<b>GDSVSSHSA</b>	FHF11 CDR-H1 (aa)
4	<b>TYYRSKWYN</b>	FHF11 CDR-H2 (aa)
5	<b>ARVGAMTFGLLTGGMDV</b>	FHF11 CDR-H3 (aa)
6	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCAGGACTGG TGAAGCCTAGCCAGACCCTGTCTGTGACATGCGG AATCTCCGGCGACAGCGTGTCCAGCCACTCCGCC GCTTGGAACTGGATCAGACAGAGCCCATCTAGGG GACTGGAGTGGCTGGGAAGGACCTACTATCGGAG CAAGTGGTACAATGACTATGCCGTGTCTGTGAAG TCCAGGATCACCATCAACCCAGATACATCCAAGA ATCAGTTCAGCCTGCAGCTGATCTCTGTGACCCCC GAGGACACAGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGTGG GCGCTATGACCTTTGGCCTGCTGACAGGCGGAAT GGACGTGTGGGGACAGGGAACCACAGTGACAGT GTCTTCC	FHF11 VH (co-nt)

7	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCAGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTCTGAGCCGCAGCTACTT AGCCTGGTACCAGCAGAGACCTGGCAAGCCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTC TGGGACAGACTTCAGTCTCACCATCAGCAGTCTG GAGCCTGAAGATTCTGCAATGTATTTCTGTCAGT <b>ACTATGGTGATTACCTCTATTTCAGTTTCGGCC</b> CAGGGACCAAAGTGGATATCAAAC	FHF11 Vk (wt-nt)
8	EIVLTQSPGTQSLSPGERATLSCRAS <b>QSLRSY</b> LAW YQQRPGKPPRLLIY <b>GASSR</b> ATGIPDRFSGSGSGTDF LTISSLEPEDSAMYFC <b>QYYGDSPLFS</b> FGPGTKVDIK	FHF11 Vk (aa)
9	<b>QSLRSY</b>	FHF11 CDR-L1 (aa)
10	<b>GAS</b>	FHF11 CDR-L2 (aa)
11	<b>QYYGDSPLFS</b>	FHF11 CDR-L3 (aa)
12	GAGATCGTGCTGACCCAGTCTCCTGGCACACAGA GCCTGTCTCCAGGAGAGAGGGCCACCCTGTCTG CAGGGCTTCCCAGAGCCTGTCTAGGTCTACCTG GCCTGGTATCAGCAGAGACCAGGCAAGCCACCTA GGCTGCTGATCTACGGAGCTTCCAGCAGGGCTAC AGGCATCCCTGACAGATTCAGCGGCTCTGGCTCC GGCACCGATTTTTCCCTGACAATCTCTTCCCTGGA GCCAGAGGACTCCGCCATGTATTTCTGTCACTACT ATGGCGATAGCCCACTGTTCTCTTTGGCCCCGGC ACCAAGGTGGACATCAAG	FHF11 Vk (co-nt)
13	CAGGTACA <b>ACTGCAGCAGT</b> CAGGTCCAGGACTGG TGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCAGTCACCTGTGC CATCTCC <b>GGGGACAGTGTCTCTAGTCACAGTGC</b> <b>TGCTT</b> GGA <b>ACTGGATCAGGCAGT</b> CCCCATCGAGA GGCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACATATTACAGG <b>TCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTCTCTGTGA</b> AAAGTCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAA GAACCAGTTCTCCCTACAGCTGGTCTCTGTGACTC CCGAGGACACGGCTGTCTATTACTGTG <b>CAAGAGT</b> <b>GGGTGCTGCGACTTTTGGAA</b> TTCTTACAGGGG <b>GTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCA</b> CCGTCTCCTCA	FHF12 VH (wt-nt)

14	<b>QVQLQQSGPGLVKPSQTL SVTCAISGDSVSSHSA WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKS RITINPDTSKNQFSLQLSVTPEDTAVYYCARVGAA TFGILTGGMDVWGQGT TTVTVSS</b>	FHF12 VH (aa)
15	<b>GDSVSSHSA</b>	FHF12 CDR-H1 (aa)
16	<b>YYRSKWYN</b>	FHF12 CDR-H2 (aa)
17	<b>ARVGAATFGILTGGMDV</b>	FHF12 CDR-H3 (aa)
18	<b>CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCAGGACTGG TGAAGCCTAGCCAGACCCTGTCTGTGACATGCGCT ATCTCCGGCGACAGCGTGTCCAGCCACTCCGCCGC TTGGA ACTGGATCAGACAGAGCCATCTAGGGGA CTGGAGTGGCTGGGAAGGACCTACTATCGGAGCA AGTGGTACAATGACTATGCCGTGTCCGTGAAGTCC AGGATCACCATCAACCCAGATACATCCAAGAATC AGTTCAGCCTGCAGCTGGTGTCTGTGACCCCGAG GACACAGCCGTGTACTATTGTGCTAGAGTGGGCGC CGCTACCTTTGGCATCCTGACAGGCGGAATGGACG TGTGGGGACAGGGAACCACAGTGACAGTGTCTTC C</b>	FHF12 VH (co-nt)
19	<b>GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCAGT CTTTGTCTCCAGGGGATAGAGCCACCCTCTCCTGC AGGGCCAGTCAGAGTCTGAGCAGAAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAGACCTGGCAAGCCTCCCA GGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCAC TGGCATCCAGACAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCT GGGACAGACTTCAGTCTCACCATCAGCAGTCTGG AGCCTGAAGATTCTGCTATGTATTCTGTCAGTA CTATGGTGATTCACCTCTATTCAGTTTCGGCCC TGGGACCAAAGTGGATATCAAAC</b>	FHF12 Vk (wt-nt)
20	<b>EIVLTQSPGTQSLSPGDRATLSCRASQSLRSYLA YQQRPGKPPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTSSLEPEDSAMYFCQYYGDSPLFSFGPGTKVDIK</b>	FHF12 Vk (aa)
21	<b>QSLRSY</b>	FHF12 CDR-L1 (aa)
22	<b>GAS</b>	FHF12 CDR-L2 (aa)
23	<b>QYYGDSPLFS</b>	FHF12 CDR-L3 (aa)

24	GAGATCGTGCTGACCCAGTCTCCTGGCACACAGA GCCTGTCTCCAGGCGACAGGGCCACCCTGTCCTG CAGGGCTTCCCAGAGCCTGTCTAGGTCCTACCTG GCCTGGTATCAGCAGAGACCAGGCAAGCCACCTA GGCTGCTGATCTACGGAGCTTCCAGCAGGGCTAC AGGCATCCCTGACAGATTCAGCGGCTCTGGCTCC GGCACCGATTTTTCCCTGACAATCTCTTCCCTGGA GCCAGAGGACTCCGCCATGTATTTCTGTCAGTACT ATGGCGATAGCCCCTGTTCTCTTTTGGCCCCGGC ACCAAGGTGGATATCAAG	FHF12 Vk (co-nt)
25	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCAGGACTGG TGAAGCCTAGCCAGACCCTGTCTGTGACATGCGGA ATCTCCGGCGACAGCGTGTCCAGCCACTCCGCC GCTTCAACTGGATCAGACAGAGCCCATCTAGGG GACTGGAGTGGCTGGGAAGGACCTACTATCGGA GCAAGTGGTACAATGACTATGCCGTGTCTGTGAA GTCCAGGATCACCATCAACCCAGATACATCCAAG AATCAGTTCAGCCTGCAGCTGATCTCTGTGACCCC CGAGGACACAGCCGTGACTATTGTGCCAGAGTG GGCGCTATGACCTTTGGCCTGCTGACAGGCGG AATGGACGTGTGGGGACAGGGAACCACAGTGAC AGTGTCTTCC	FHF11-VH W36F (co-nt)
26	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTVTCGISGDSVSSHSAAF NWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRI TINPDTSKNQFSLQLISVTPEDTAVYYCARVGAMTF GLLTGGMDVWGQGTITVTVSS	FHF11-VH W36F (aa)
27	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCAGGACTGG TGAAGCCTAGCCAGACCCTGTCTGTGACATGCGGA ATCTCCGGCGACAGCGTGTCCAGCCACTCCGCC GCTTGGAACTGGATCAGACAGAGCCCATCTAGGG GACTGGAGTGGCTGGGAAGGACCTACTATCGGA GCAAGTTCTACAATGACTATGCCGTGTCTGTGAA GTCCAGGATCACCATCAACCCAGATACATCCAAG AATCAGTTTAGCCTGCAGCTGATCTCTGTGACCCC CGAGGACACAGCCGTGACTATTGTGCCAGAGTG GGCGCTATGACCTTCGGCCTGCTGACAGGCGG AATGGACGTGTGGGGACAGGGAACCACAGTGAC AGTGTCTTCC	FHF11-VH W59F (nt)
28	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTVTCGISGDSVSSHSAAW NWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKIFYNDYAVSVKSRI INPDTSKNQFSLQLISVTPEDTAVYYCARVGAMTFG LLTGGMDVWGQGTITVTVSS	FHF11-VH W59F (aa)

29	<b>TYYRSKFYN</b>	FHF11-VH W59F CDRH2 (aa)
30	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCAGGACTGG TGAAGCCTAGCCAGACCCTGTCTGTGACATGCGG CATCTCCGGCGACAGCGTGTCCAGCTACTCCGC CGCTTGGAAGTGGATCAGACAGAGCCCATCTAGG GGACTGGAGTGGCTGGGAAGGACCTACTATCGG AGCAAGTGGTACAATGACTATGCCGTGTCTGTG AAGTCCAGGATCACCATCAACCCAGATACATCCA AGAATCAGTTCAGCCTGCAGCTGATCTCTGTGAC CCCCGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTGCCAGA GTGGGCGCTATGACCTTTGGCCTGCTGACAGG CGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGAACCACAGT GACAGTGTCTTCC	FHF11v3 VH (co-nt)
31	QVQLQQSGPGLVKPSQTLVTCGISGDSVSSYSAAW NWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSR ITINPDTSKNQFSLQLISVTPEDTAVYYCARVGAMT FGLLTGGMDVWGQTTVTVSS	FHF11v3 VH (aa)
32	<b>GDSVSSYSA</b>	FHF11v3 CDRH1 (aa)
33	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCAGGACTGG TGAAGCCTAGCCAGACCCTGTCTGTGACATGCGG AATCTCCGGCGACAGCGTGTCCAGCCACTCCG CCGCTTGGAAGTGGATCAGACAGAGCCCATCTAG GGGACTGGAGTGGCTGGGAAGGACCTACTATCG GAGCGGCTGGTACAATGACTATGCCGTGTCTGT GAAGTCCAGGATCACCATCAACCCAGATACATCC AAGAATCAGTTCAGCCTGCAGCTGATCTCTGTGA CCCCGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTGCCAG AGTGGGCGCTATGACCTTTGGCCTGCTGACAG GCGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGAACCACA GTGACAGTGTCTTCC	FHF11v6 VH (nt)
34	QVQLQQSGPGLVKPSQTLVTCGISGDSVSSHSA WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSGWYNDYAVSVKS RITINPDTSKNQFSLQLISVTPEDTAVYYCARVGAM TFGLLTGGMDVWGQTTVTVSS	FHF11v6 VH (aa)
35	<b>TYYRSGWYN</b>	FHF11v6 CDRH2 (aa)

36	<p>CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCAGGACTGG  TGAAGCCTAGCCAGACCCTGTCTGTGACATGCGGC  ATCTCCGGCGACAGCGTGTCCAGCTACTCCGCC  <b>GCTTGGAACTGGATCAGACAGAGCCCATCTAGGG</b>  <b>GACTGGAGTGGCTGGGAAGGACCTACTATCGGA</b>  <b>GCGGCTGGTACAATGACTATGCCGTGTCTGTGAA</b>  GTCCAGGATCACCATCAACCCAGATACATCCAAG  AATCAGTTCAGCCTGCAGCTGATCTCTGTGACCCC  CGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGTG  <b>GGCGCTATGACCTTTGGCCTGCTGACAGGCGG</b>  <b>AATGGACGTGTGGGGACAGGGAACCACAGTGAC</b>  AGTGTCTTCC</p>	FHF11v9 VH (co-nt)
37	<p>QVQLQQSGPGLVKPSQTLVTCGISGDSVSSYSAAW  NWIRQSPSRGLEWLGR<b>TYYRSGWYNDYAVSVKSR</b>  ITINPDTSKNQFSLQLISVTPEDTAVYYCARVGAMT  <b>FGLLTGGMDVWGQTTVTVSS</b></p>	FHF11v9 VH (aa)
38	<p>CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCAGGACTGG  TGAAGCCTAGCCAGACCCTGTCTGTGACATGCGC  TATCTCCGGCGACAGCGTGTCCAGCCACTCCGC  <b>CGCTTCAACTGGATCAGACAGAGCCCATCTAGG</b>  <b>GGACTGGAGTGGCTGGGAAGGACCTACTATCGG</b>  <b>AGCAAGTGGTACAATGACTATGCCGTGTCCGTG</b>  AAGTCCAGGATCACCATCAACCCAGATACATCCA  AGAATCAGTTCAGCCTGCAGCTGGTGTCTGTGAC  CCCCGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTGCTAGA  <b>GTGGGCGCCGCTACCTTTGGCATCCTGACAGG</b>  <b>CGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGAACCACAGT</b>  GACAGTGTCTTCC</p>	FHF12-VH-W36F (co-nt)
39	<p>QVQLQQSGPGLVKPSQTLVTC<b>AISGDSVSSHSAAF</b>  NWIRQSPSRGLEWLGR<b>TYYRSKWYNDYAVSVKSR</b>  ITINPDTSKNQFSLQLVSVTPEDTAVYYCARVGAAT  <b>FGILTGGMDVWGQTTVTVSS</b></p>	FHF12-VH-W36F (aa)

40	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCAGGACTGG TGAAGCCTAGCCAGACCCTGTCTGTGACATGCGC TATCTCCGGCGACAGCGTGTCCAGCCACTCCGC CGCTTGGAAGTGGATCAGACAGAGCCCATCTAGG GGACTGGAGTGGCTGGGAAGGACCTACTATCGG AGCAAGTTCTACAATGACTATGCCGTGTCCGTGA AGTCCAGGATCACCATCAACCCAGATACATCCAA GAATCAGTTCAGCCTGCAGCTGGTGTCTGTGACC CCCGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTGCTAGAG TGGGCGCCGCTACCTTTGGCATCCTGACAGGC GGAATGGACGTGTGGGGACAGGGAACACAGTG ACAGTGTCTTCC	FHF12-VH-W59F (co-nt)
41	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSHAA WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKFYNDYAVSVKS RITINPDTSKNQFSLQLVSVTPEDTAVYYCARVGA TFGILTGGMDVWGQGTITVTVSS	FHF12-VH-W59F (aa)
42	<b>TYRSKFYN</b>	FHF12-CDRH2- W59F (aa)
43	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSYNVW NWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSGWYNDYAESVKSRI TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARSGHITVF GVNVDAFDMWQGTMTVTVSS	FM08 VH
44	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRISQSLSSYTHWY QQKPGKAPKLLIYAASSRSGVPSRFSGSGSGTDF LTISLQPEDFATYYCQQSRTFGQGTKVEIK	FM08 VL
45	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	WT hIgG1 Fc
46	ESKYGPPCPPCPAPPVAGP	Химерная шарнирная последовательност ь

47	<p>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP  VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP  SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHH  CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV  VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA  PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC  LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS  FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFVLSHLSYHTQ  KSLSLSPGK</p>	<p>IgHG1*01, G1m3  CH1-CH3 с  мутациями M428L  и N434S и C-  концевым лизином</p>
48	<p>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA  KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL  TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>	<p>Каппа легкая цепь  CL</p>
49	<p>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP  VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP  SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHH  CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV  VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA  PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC  LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS  FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFVLSHLSYHTQ  KSLSLSPG</p>	<p>IgHG1*01, G1m3  CH1-CH3 с  мутациями M428L  и N434S, без C-  концевого лизина</p>
50	<p>QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCGISGDSVSSYSAAW  NWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSGWYNDYAVSVKSRI  TINPDTSKNQFSLQLISVTPEDTAVYYCARVGAMTF  GLLTGGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSS  KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV  HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH  KPSNTKVDKRVKPKCDKTHHCPPCPAPPELLGGPSV  FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN  WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH  QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE  PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW  ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  QQGNVFCFVLSHLSYHTQKSLSLSPGK</p>	<p>FHF11v9-MLNS  тяжелая цепь с C-  концевым лизином</p>

51	<p>QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCGISGDSVSSYSAAW  NWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSGWYNDYAVSVKSRI  TINPDTSKNQFSLQLISVTPEDTAVYYCARVGAMTF  GLLTGGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSS  KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV  HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH  KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV  FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN  WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH  QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE  PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW  ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  QQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG</p>	<p>FHF11v9-MLNS  тяжелая цепь без C-  концевого лизина</p>
52	<p>EIVLTQSPGTQSLSPGERATLSCRASQSLRSYLA  WYQQRPGKPPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS  GTDFTSLTISSLEPEDSAMYFCQYYGDSPLFS  FGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT  ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYAC  EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>	<p>FHF11v9-MLNS  легкая цепь</p>
53	<p><b>GDSVSSHSAAF</b></p>	<p>FHF11 и FHF12  CDRH1 с  фланкирующим  Phe (aa)</p>

54	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGACCAGGACTGG TGAAGCCTAGCCAGACCCTGTCTGTGACATGCGG CATCTCCGGCGACAGCGTGTCCAGCTACTCCGCC GCTTGGAACTGGATCAGACAGAGCCCATCTAGGG GACTGGAGTGGCTGGGAAGGACCTACTATCGGAG CGGCTGGTACAATGACTATGCCGTGTCTGTGAAG TCCAGGATCACCATCAACCCAGATACATCCAAGA ATCAGTTCAGCCTGCAGCTGATCTCTGTGACCCCC GAGGACACAGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGTGG GCGCTATGACCTTTGGCCTGCTGACAGGCGGAAT GGACGTGTGGGGACAGGGAACACAGTGACAGT GTCTTCCGCATCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCC CCCTGGCACCAAGTAGCAAGAGCACATCCGGTGG CACAGCCGCCCTGGGTTGTCTGGTGAAAGATTAT TTCCTGAGCCCGTGACAGTCTCCTGGAACCTCTGG CGCCCTGACCTCCGGAGTGACACATTCCCTGCT GTGCTGCAGTCCAGCGGCCCTGTACTCCCTGTCTTC CGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAGCCTT CCAATACAAAGGTGGACAAGAGGGTGGAGCCAA AGAGCTGTGATAAGACCCATACATGCCACCTTG TCCAGCTCCAGAGCTGCTGGGCGGCCATCCGTG TTCCCTGTTTCCACCCAAGCCCAAGGACACCCTGAT GATCTCTAGAACCCCAGAGGTGACATGCGTGGTG GTGGACGTGTCCCACGAGGATCCCGAGGTGAAGT TTAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAA TGCTAAGACAAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAA CAGCACCTATCGGGTGGTGTCTGTGCTGACAGTG CTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATA AGTGCAAGGTGAGCAATAAGGCCCTGCCTGCTCC AATCGAGAAGACCATCTCTAAGGCCAAGGGCCAG CCCAGAGAGCCTCAGGTGTACACACTGCCTCCAA GCCGCGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCTCT GACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCTGAC ATCGCTGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCTG AGAACAATTACAAGACCACACCCCCTGTGCTGGA CTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGA CCGTGGATAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACG TGTTCTCCTGTTCTGTGATGCACGAAGCCCTGCAC AACCATTATACTCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCC TGGA AAA	FHF11v9 тяжелая цепь нуклеотидная последовательност ь
----	---	--

55	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCAGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTCTGAGCCGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAGACCTGGCAAGCCTCCCAAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGTCTCACCATCAGCAGTCTGGAGCCTGAAGATTCTGCAATGTATTTCTGTCAGTACTATGGTGATTCACCTCTATTCAGTTTCGGCCCAGGACCAAAGTGGATATCAAACCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAATTGAAATCTGGAAGTGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGCTCTGCAGAGCGGCAATTCTCAGGAGTCCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGATTCTACATATTCCTGTCCAGCACCTGACACTGAGCAAGGCCGATTACGAGAAGCACAAAGGTGTATGCTTGTGAGGTGACCCATCAGGGCCTGTCTTCCCTGTGACAAAGTCTTTCAACAGGGGAGAGTGT	FHF11v9 легкая цепь нуклеотидная последовательность
56	QVQLQQSGPGLVKPSQTL SVTCGISGDSVSSYSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSGWYNDYAVSVKSRI TINPDTSKNQFSLQLISVTPEDTAVYYCARVGAMTF GLLTGGMDVWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	FHF11v9 тяжелая цепь (aa)
57	QVQLQQSGPGLVKPSQTL SLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRI TINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARVGAMIF GLLTGGMDVWGQGT TTVTVSS	FHF-VH-UCA
58	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWY QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPLFTFGPGTKVDIK	FHF-VL-UCA

Таблица 2. Ключ последовательности – SEQ ID NO. для определенных антител

	SEQ ID NO:											
Антигено	VH	CDR H1	CDR H2	CDR H3	VH (cont)	VL (Vk)	VL (Vk)	CD RL1	CD RL2	CD RL3	VL (Vk)	
ло	(wt-nt)	(aa)	(aa)	(aa)	(cont)	( )	( )	(aa)	(aa)	(aa)	(cont)	
FHF11	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
FHF11-VH W36F		26	3	4	5	25		8	9	10	11	12
FHF11-VH W59F		28	3	29	5	27		8	9	10	11	12
FHF11v3		31	32	4	5	30		8	9	10	11	12
FHF11v6		34	3	35	5	33		8	9	10	11	12
FHF11v9		37	32	35	5	36		8	9	10	11	12
FHF12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
FHF12-VH-W36F		39	15	16	17	38		20	21	22	23	24
FHF12-VH-W59F		41	15	42	17	40		20	21	22	23	24

## ПРИМЕРЫ

### ПРИМЕР 1

Идентификация и функциональные тестирования моноклональных антител к НА

Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) от анонимных доноров отбирали на основе нейтрализации соответствующей сывороткой псевдовирuсов гриппа H5 (группа 1) и H7 (группа 2). Доноров отбирали путем скрининга сыворотки из тонзиллярных образцов доноров (n=50) на реактивность против антигенов

гемагглютини́на подтипов H5 и H7 и сыворотки из образцов МКПК доноров (n=124) на реактивность против псевдовирuсов подтипов H5 и H7. Связывание оценивали с помощью FACS. В-клетки памяти от пяти доноров сортировали с помощью проточной цитометрии для ввода в рабочий процесс обнаружения (фигура 1). Отдельные отсортированные В-клетки (n=6700) совместно культивировали с мезенхимальными стромальными клетками (МСК) в 50 мкл культуры для стимуляции секреции антител. Секретируемые антитела оценивали с использованием анализов связывания и нейтрализации псевдовирuса. Связывание с НА из вирусuв гриппа А (IAV) группы I, IAV группы II и вирусuв гриппа В оценивали с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) для определения широты. Нейтрализацию, измеряемую как блокаду проникновения вирусa и снятие покрытия, оценивали путем мониторинга экспрессии люциферазы после инфицирования клеток-мишеней частицами псевдовирuса, экспрессирующими люциферазу (LUC), H5 или H7. Последовательности антител из выбранных В-клеток клонировали в виде кДНК и секвенировали.

Для дальнейшего изучения были выбраны два клонально родственных моноклональных антитела, FHF11 (VH: SEQ ID NO: 2; VL: SEQ ID NO: 8) и FHF12 (VH: SEQ ID NO: 14; VL: SEQ ID NO: 20). Связывание этих антител с гемагглютинином (НА), полученным из вирусa гриппа А (IAV), оценивали с использованием FACS; в этом анализе НА, полученные из IAV, циркулирующие в животном-резервуаре, экспрессировали на клетках млекопитающих и измеряли связывание антител вместе с антителом сравнения FM08 (VH: SEQ ID NO: 43; VL: SEQ ID NO: 44; см. также MEDI8852 (Kallewaard et al., Cell 166 (3): 596-608(2016), в частности, фигура 1 в ней). Данные показаны на фигуре 2.

Связывание FHF11 и FHF12 с H1, H2, H5 и H9, полученными из IAV группы I (фигура 3А), и H3, полученными из IAV группы II (фигура 3В), измеряли с помощью ELISA, регистрируемое как Log EC50 (нг/мл). Связывание с помощью FM08 также измеряли.

Связывание FHF11 и FHF12 с НА из Swine Eurasian avian-подобного (EA) штамма H1N1, A/Swine/Jiangsu/J004/2018, экспрессированного в клетках млекопитающих, также измеряли с помощью проточной цитометрии (фигура 4).

Полиреактивность или то, связываются ли FHF11 и FHF12 неспецифически с неродственными собственными и/или чужеродными мишенями, оценивали с использованием клеток эпителия человека типа 2 (HEP-2) (фигура 5). Полиреактивное антитело, F16v3.11.18, было включено в качестве положительного контроля, и антитело к парамиксовирусу «МРЕ8» (Corti et al. Nature 501 (7467):439-43 (2013)) было включено в качестве отрицательного контроля.

Нейтрализацию FHF11 и FHF12 штаммов псевдовируса H1N1 IAV (группа I) A/California/09 (фигура 6A) и H3N2 (группа II) A/Aichi/2/68 (фигура 6B) оценивали в исследованиях *in vitro*. Антитела сравнения FM08 и FY1 (FY1 также описано в Kaaleward et al., Cell 166(3):596-608 (2018); например, фигура 1 в ней) также оценивали. FHF11 и FHF12, наряду с FM08, дополнительно оценивали на нейтрализующую способность в отношении псевдотипированных вирусов H5 (H5/VN/11/94 pp; фигура 7A) и H7 (H7/IT/99 pp; фигура 7B).

Активацию FHF11 вариантов FcγRIIIa (фигура 8A) и FcγRIIIa (фигура 8B) оценивали с использованием анализа репортера люциферазы, управляемого NFAT. Активацию клеточных линий Jurkat-FcγRIIIa (F158) и Jurkat-FcγRIIIa (H131) оценивали после 20-часовой инкубации с клетками A549, инфицированными штаммом гриппа H1N1 A/Puerto Rico/8/1934 при MOI, равной 6, и штаммом гриппа H3N2 A/Aichi/2/1968 при MOI, равной 18. Антитело FM08, содержащее мутацию Fc MLNS (M428L/N434S; «LS» на фигуре), использовали в качестве антитела сравнения, и антитело FY1, содержащее мутацию Fc GRLR (G236R/L328R), использовали в качестве референса.

## ПРИМЕР 2

### Конструирование и тестирование вариантов антител к HA

Было обнаружено, что FHF11 использует гены VH6-1/DH3-3. Фигуры 9A-9D иллюстрируют связывающие взаимодействия между FM08, в котором используются эти же гены, и HA IAV.

Пятнадцать (15) вариантов FHF11 были получены путем осуществления конструирования в одном или обоих вариабельных доменах. Краткое описание различий последовательностей между FHF11-WT и каждым из вариантов антител (от v1 до v15) показано на фигуре 10B. Эти антитела тестировали на связывание с HA и нейтрализацию инфекции.

Связывание FHF11 дикого типа («FHF11-WT») и пятнадцати вариантов антител (от FHF11v1 до FHF11v15) с клетками, экспрессирующими различные подтипы HA, полученные из вирусов, циркулирующих в животном-резервуаре, измеряли с помощью FACS (фигура 10A). FHF11v3 (VH: SEQ ID NO: 31, VL: SEQ ID NO: 8), FHF11v6 (VH: SEQ ID NO: 34, VL: SEQ ID NO: 8) и FHF11v9 (VH: SEQ ID NO: 37, VL: SEQ ID NO: 8) были протестированы в некоторых дальнейших исследованиях. Связывание этих антител с несколькими типами HA дополнительно исследовали с помощью ELISA с использованием панели H3N2 HA из изолятов IAV человека. Результаты показаны на фигуре 11. Также тестировали связывание с панелью HA группы I, полученной из вирусов

H1N1, H2N2, H5N1 и H9N2. Результаты показаны на фигуре 12. Биослойную интерферометрию (BLI) использовали для определения KD, ассоциации (kon) и диссоциации (kdis) для FHF11-WT, FHF11v3, FHF11v6, связывающихся с антигенами H5 (фигура 13) и H7 (фигура 14).

Оценивали нейтрализацию псевдовируса H5 с помощью FHF11-WT и пятнадцати вариантов антител, полученных из FHF11-WT. График, показывающий процент нейтрализации при различных концентрациях антител (нг/мл), представлен на фигуре 15A, в то время как нейтрализация, представленная в виде значений IC50 (нг/мл), показана на фигуре 15B для FHF11-WT и двенадцати (12) вариантов антител. На фигуре 15C показаны данные для FHF11-WT и трех вариантов антител, FHF11v3, FHF11v6 и FHF11v9, которые были отобраны для дальнейшего анализа.

Оценивали нейтрализацию подтипов H1N1 и H3N2 с помощью FHF11-WT, FHF11v3, FHF11v6 и FHF11v9. Протестированными подтипами гриппа были H1N1 A/PR/8/34 (фигура 16A), H1N1 A/Solomon Islands/3/06 (фигура 16B), H1N1 A/California/2009 (фигура 16C), H3N2 A/Aichi/2/68 (фигура 16D), A/Brisbane/10/07 (фигура 16E) и H3N2 A/Hong Kong/68 (фигура 16F).

Активацию FHF11v9 FcγRIIIa и FcγRIIa оценивали с использованием NFAT-опосредованного репортера люциферазы в сконструированных клетках Jurkat. Активацию клеток Jurkat-FcγRIIIa (F158) измеряли после контакта с клетками A549, которые были предварительно инфицированы H1N1 (фигура 17A) или H3N2 (фигура 17B). Активацию клеток Jurkat-FcγRIIa (H131) измеряли после контакта с клетками A549, которые были предварительно инфицированы H1N1 (фигура 18A) или H3N2 (фигура 18B). Также измеряли активацию антителами сравнения FM08 (содержащими мутации Fc M428L/N434S; «FM08\_LS» на фигуре) и FY1-GRLR (содержащими мутации Fc G236R/L328R).

### ПРИМЕР 3

#### In Vivo исследования фармакокинетики и фармакодинамики

Фармакокинетический анализ вариантов Fc (мутации M428L/N434S) FHF11v9 («FHF11v9-LS»), FHF12 («FHF12-LS») и антитела сравнения, FM08\_LS, проводили у мышей tg32 и определяли период полувыведения, как показано на фигуре 19. Концентрацию антител в плазме определяли *in vitro* с использованием анализа ELISA. Антиген IAV-НА (вирус гриппа А H1N1 A/California/07/2009, белковый антиген гемагглютинина (с His Tag); Sino Biologicals) разбавляли до 2 мкг/мл в PBS (фосфатно-солевой буферный раствор) и добавляли 25 мкл в лунки 96-луночного планшета с плоским

дном  $\frac{1}{2}$  площади для ELISA для покрытия в течение ночи при 4 °C. После покрытия планшеты дважды промывали 0,5×PBS с добавлением 0,05% Tween20 (промывочный раствор) с использованием автоматической промывочной машины для ELISA. Затем планшеты блокировали 100 мкл/лунку PBS с добавлением 1% BSA (блокирующий раствор) в течение 1 часа при комнатной температуре (RT), а затем дважды промывали. Образцы плазмы центрифугировали при 10000 g в течение 10 минут при 4 °C, а затем предварительно разбавляли 1:2000 (временные точки 2 и 6 часов), 1:1000 (временная точка 24 часа), 1:400 (временные точки 3 и 7 дней) и 1:250 (временные точки 10, 14 и 17 дней). Для таб к NA образцы плазмы центрифугировали при 10000 g в течение 10 минут при 4 °C, а затем предварительно разбавляли 1:150 (временные точки 2 и 6 часов), 1:75 (временная точка 24 часа), 1:45 (временная точка 3 дня), 1:30 (временная точка 7 дней) и 1:15 (временные точки 10, 14 и 17 дней) в блокирующем растворе в 96-луночных планшетах для культивирования клеток. Затем образцы разбавляли 1:2 ступенчато в двух повторностях для получения в общей сложности 8 разведений. Стандарты для каждого тестируемого антитела получали аналогичным образом путем разбавления антител до 0,5 мкг/мл. Затем стандарты разбавляли 1:3 ступенчато в блокирующем растворе в двух повторностях, в общей сложности 8 разведений. Двадцать пять мкл полученных образцов или стандартов добавляли в лунки, покрытые гемагглютинином (НА) или козьим античеловеческим IgG, и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. После четырех промываний добавляли 25 мкл конъюгата козьего античеловеческого IgG с HRP (AffiniPure F(ab')<sub>2</sub> Fragment, Fcγ Fragment-Specific; Jackson ImmunoResearch), разбавленного в блокирующем растворе 1:5000 (конечная концентрация 0,16 мкг/мл), на лунку для обнаружения и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. После четырех промываний планшеты обрабатывали путем добавления 25 мкл на лунку субстрата SureBlue TMB (Bioconcept). После около 7-20 мин инкубации при комнатной температуре, когда цветовая реакция достигла плато (максимальная OD (оптическая плотность) около 3,8), добавляли 25 мкл 1% HCl на лунку, чтобы остановить реакцию, и измеряли оптическую плотность при 450 нм с помощью спектрофотометра.

Чтобы определить концентрацию антител в плазме мыши, значения OD из данных ELISA наносили на график в зависимости от концентрации в программном обеспечении Gen5 (BioTek). Применяли нелинейную аппроксимацию кривой с использованием модели переменного наклона, четырех параметров и уравнения:  $Y=(A-D)/(1+(X/C)^B)+D$ . Значения OD разведений образцов, которые находились в пределах предсказуемого диапазона анализа стандартной кривой  $\frac{3}{4}$ , как определено в установочном эксперименте с образцами контроля качества в верхнем, среднем или нижнем диапазоне кривой  $\frac{3}{4}$ ,

интерполировали для количественного анализа образцов. Затем определяли концентрацию антител в плазме с учетом окончательного разведения образца. Если более одного значения разведений образца попадали в линейный диапазон стандартной кривой, использовалось среднее из этих значений. Данные фармакокинетики (ФК) анализировали с помощью некомпартментного анализа с использованием компьютерной программы WinNonlin (8.1.0.3530 Core Version, Phoenix software, Certara) со следующими настройками: Модель: Данные плазмы, в/в (внутривенное) болюсное введение; Количество непропущенных наблюдений: 8; Интервал равновесного состояния Tau: 1,00; Время дозы: 0,00; Количество дозы: 5,00 мг/кг; Метод расчета: Линейный трапециевидный с линейной интерполяцией; Взвешивание для расчетов lambda\_z: Равномерное взвешивание; Метод Lambda\_z: Найти наилучшее соответствие для lambda\_z, логарифмическая регрессия. Графический и статистический анализ (линейная регрессия или анализ выбросов) проводили с использованием программного обеспечения Prism 7.0 (GraphPad, Ла-Хойя, Калифорния, США).

Профилактическую активность FHF11v9 оценивали на BALB/c мышью модели инфекции IAV. Вкратце, мышам BALB/c в возрасте 7-8 недель вводили (в/в) FHF11v9 или контрольный носитель за один день до интраназальной инфекции при LD90 (90% летальной дозы) подтипа H1N1 A/Puerto Rico/8/34 или подтипа H3N2 A/Hong Kong/1/68. Антитело вводили при 0,2, 0,6, 2 или 6 мг/кг. Исходную сыворотку собирали в начале инфекции, и как массу тела, так и смертность оценивали в каждый из дней 2-14 после инфицирования. Измерения массы тела в течение пятнадцати дней показаны на Фигурах 20A-20D (A/Puerto Rico/8/34, вводимый после FHF11v9) и Фигурах 21A-21D (A/Hong Kong/1/68, вводимый после FHF11v9). Также измеряли общую смертность (Фигура 22A, A/Puerto Rico/8/34-инфицированные мыши; Фигура 22B, A/Hong Kong/1/68-инфицированные мыши).

Были проведены дополнительные исследования нейтрализации *in vitro* и *in vivo* профилактики и фармакокинетики. Данные и настройки анализа показаны на фигурах 23-26B.

Различные варианты осуществления, описанные в настоящем документе, можно комбинировать, получая дополнительные варианты осуществления. Все патенты США, публикации патентных заявок США, патентные заявки США, иностранные патенты, иностранные патентные заявки и непатентные публикации, упомянутые в настоящем описании и/или перечисленные в листе данных заявки, включая предварительную заявку США № 63/117,437, поданную 23 ноября 2020 года, и предварительную заявку США № 63/123,419, поданную 9 декабря 2020 года, полностью включены в настоящий документ

посредством ссылки. Аспекты вариантов осуществления могут быть модифицированы, если необходимо использовать концепции различных патентов, заявок и публикаций для обеспечения еще нескольких дополнительных вариантов осуществления.

В варианты осуществления можно вносить указанные и другие изменения в свете вышеприведенного подробного описания. В целом, термины, используемые в следующей формуле изобретения, не должны толковаться как ограничивающие формулу изобретения конкретными вариантами осуществления, раскрытыми в описании и формуле изобретения, но должны толковаться как включающие все возможные варианты осуществления вместе с полным объемом эквивалентов, на которые распространяется такая формула изобретения. Соответственно, формула изобретения не ограничена описанием.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющую комплементарность область (CDR) H1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где:

(i) CDRH1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 32, 3 или 15 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три кислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или

(ii) CDRH2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 35, 4, 29, 16 и 42 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или

(iii) CDRH3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 5 или 17 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или

(iv) CDRL1 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 9 или 21 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или

(v) CDRL2 необязательно содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 10 или 22 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или

(vi) CDRL3 содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 11 или 23 или ее функционального варианта, содержащего одну, две или три аминокислотные замены, одна или более из которых необязательно представляет собой консервативную замену и/или представляет собой замену на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или

зародышевой линией аминокислоту,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (НА) вируса гриппа А (IAV).

2. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, способное связываться с гемагглютинином (НА) вируса гриппа А (IAV) на клеточной поверхности клетки-хозяина и/или на вирионе.

3. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 1 или п. 2, способное нейтрализовать инфекцию IAV на модели инфекции *in vitro*, и/или на животной модели инфекции *in vivo*, и/или у человека, где, необязательно, указанная модель инфекции *in vitro* включает клетку-мишень и псевдовирус или клетку-мишень и живой вирус.

4. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3, содержащее аминокислотные последовательности CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 и CDRL3 согласно SEQ ID NO:

- (i) 32, 35, 5 и 9-11, соответственно;
- (ii) 3, 29, 5 и 9-11, соответственно;
- (iii) 32, 4, 5 и 9-11, соответственно;
- (iv) 3, 35, 5 и 9-11, соответственно;
- (v) 3-5 и 9-11, соответственно;
- (vi) 15-17 и 21-23, соответственно; или
- (vii) 15, 42, 17 и 21-23, соответственно.

5. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3, содержащее аминокислотные последовательности CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 и CDRL3 согласно SEQ ID NO:

- (i) 3, 29, 5 и 9-11, соответственно;
- (ii) 3, 35, 17 и 9-11, соответственно; или
- (iii) 32, 35, 17 и 9-11, соответственно.

6. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-5, где:

(i) VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% (например, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более) идентичность аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 и 41, где вариация последовательности относительно SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 или 41, соответственно, является необязательно ограниченной одной или более каркасными областями, и/или вариация последовательности включает одну или более замен на кодируемую зародышевой линией аминокислоту; и/или

(ii) VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% (например, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более) идентичность аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 8 или 20, где вариация последовательности относительно SEQ ID NO: 8 или 20, соответственно, является необязательно ограниченной одной или более каркасными областями, и/или вариация последовательности включает одну или более замен на кодируемую зародышевой линией аминокислоту.

7. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-6, где:

(i) VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичность аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 и 41, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичность аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 8; или

(ii) VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичность аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 и 41, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичность аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 20.

8. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, где VH и VL содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO:

- (i) 37 и 8, соответственно;
- (ii) 26 и 8, соответственно;
- (iii) 28 и 8, соответственно;
- (iv) 31 и 8, соответственно;
- (v) 34 и 8, соответственно;
- (vi) 2 и 8, соответственно;
- (vii) 14 и 20, соответственно;
- (viii) 39 и 20, соответственно; или
- (ix) 41 и 20, соответственно.

9. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, где VH и VL содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO:

- (i) 2 и 20, соответственно;
- (ii) 26 и 20, соответственно;

- (iii) 28 и 20, соответственно;
- (iv) 31 и 20, соответственно;
- (v) 34 и 20, соответственно;
- (vi) 37 и 20, соответственно;
- (v) 14 и 8, соответственно;
- (vi) 39 и 8, соответственно; или
- (vii) 41 и 8, соответственно.

10. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 32, 35 и 5, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 9-11, соответственно,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

11. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 3, 29 и 5, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 9-11, соответственно,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

12. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 32, 4 и 5, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 9-11, соответственно,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

13. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее

вариабельный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 3, 35 и 5, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 9-11, соответственно,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

14. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 3-5, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 9-11, соответственно,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

15. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 15-17, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 21-23, соответственно,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

16. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH), содержащий CDRH1, CDRH2 и CDRH3, и вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDRL1, CDRL2 и CDRL3, где CDRH1, CDRH2 и CDRH3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей, представленных в SEQ ID NO: 15, 42 и 17, соответственно, и CDRL1, CDRL2 и CDRL3 содержат или состоят из аминокислотных последовательностей согласно SEQ ID NO: 21-23, соответственно,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

17. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее:

(1) переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO:53, аминокислотную последовательность согласно любой из SEQ ID NO: 4, 29 и 35 и аминокислотную последовательность согласно любой из SEQ ID NO: 5 и 17; и

(2) переменный домен легкой цепи (VL), содержащий аминокислотные последовательности согласно SEQ ID NO: 9-11,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

18. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), где:

(i) VH содержит CDRH1, CDRH2 и CDRH3 в соответствии с аминокислотной последовательностью VH, представленной в любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 и 41; и

(ii) VL содержит CDRL1, CDRL2 и CDRL3 в соответствии с аминокислотной последовательностью VL, представленной в SEQ ID NO: 2,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

19. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), где:

(i) VH содержит CDRH1, CDRH2 и CDRH3 в соответствии с аминокислотной последовательностью VH, представленной в любой из SEQ ID NO: 37, 2, 26, 28, 31, 34, 14, 39 и 41; и

(ii) VL содержит CDRL1, CDRL2 и CDRL3 в соответствии с аминокислотной последовательностью VL, представленной в SEQ ID NO: 8,

где антитело или антигенсвязывающий фрагмент способно связываться с гемагглютинином (HA) вируса гриппа А (IAV).

20. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 18 или п. 19, где CDR соответствуют системе нумерации IMGT.

21. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 18 или п. 19, где CDR соответствуют системе нумерации Kabat.

22. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 18 или п. 19, где CDR соответствуют системе нумерации Chothia.

23. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 18 или п. 19, где CDR соответствуют системе нумерации AHO.

24. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 18 или п. 19, где CDR соответствуют системе нумерации North.

25. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 18 или п. 19, где CDR соответствуют системе нумерации Martin.

26. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-25, где VH кодируется или происходит от VH6-1, DH3-3 и JH6, и/или VL кодируется или происходит от VK3-20 и JK3.

27. Антитело к гемагглютину (HA) вируса гриппа или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 37, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 8.

28. Антитело к гемагглютину (HA) вируса гриппа или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 26, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 8.

29. Антитело к гемагглютину (HA) вируса гриппа или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 28, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 8.

30. Антитело к гемагглютину (HA) вируса гриппа или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 31, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 8.

31. Антитело к гемагглютину (HA) вируса гриппа или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 34, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 8.

32. Антитело к гемагглютину (HA) вируса гриппа или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL), где VH содержит или состоит из аминокислотной

последовательности согласно SEQ ID NO: 2, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 8.

33. Антитело к гемагглютину (HA) вируса гриппа или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее варибельный домен тяжелой цепи (VH) и варибельный домен легкой цепи (VL), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 14, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 20.

34. Антитело к гемагглютину (HA) вируса гриппа или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее варибельный домен тяжелой цепи (VH) и варибельный домен легкой цепи (VL), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 39, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 20.

35. Антитело к гемагглютину (HA) вируса гриппа или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее варибельный домен тяжелой цепи (VH) и варибельный домен легкой цепи (VL), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 41, и VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 20.

36. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-35, способное предотвращать и/или ослаблять инфекцию:

- (i) H1N1 IAV, где, необязательно, H1N1 IAV включает A/PR8/34; и/или
- (ii) H3N2 IAV, где, необязательно, H3N2 IAV включает A/Hong Kong/68.

37. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-36, способное предотвращать или снижать потерю массы у субъекта, имеющего инфекцию IAV, необязательно в течение (i) вплоть до 15 дней или (ii) в течение 15 дней или более после введения эффективного количества антитела или антигенсвязывающего фрагмента, где предотвращение или снижение потери массы представлено относительно не получавшего лечения референсного субъекта, имеющего инфекцию IAV.

38. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-37, способное предотвращать потерю массы тела более 10 % у субъекта, имеющего инфекцию IAV, где потерю массы тела определяют относительно массы тела субъекта непосредственно до инфекции IAV или на ранней стадии инфекции IAV.

39. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-38, способное продлевать выживаемость субъекта, имеющего инфекцию IAV, по сравнению с выживаемостью не получавшего лечения референсного субъекта, имеющего инфекцию IAV.

40. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-39, имеющее период полувыведения *in vivo* у мыши (например, мыши tg32):

- (i) в диапазоне от около 7 до около 12,2 дней, от около 8 до около 11 дней, от около 8,5 до около 10,5 дней или от около 9 до около 10,5 дней;
- (ii) от 8 до 11 дней, или от 8,5 до 10,5 дней, или от 9 до 10 дней;
- (iii) 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9, 9,0, 9,1, 9,2, 9,3, 9,4, 9,5, 9,6, 9,7, 9,8, 9,9, 10,0, 10,1, 10,2, 10,3, 10,4, 10,5, 10,6, 10,7, 10,8, 10,9, 11,0, 11,1, 11,2, 11,3, 11,4, 11,5, 11,6, 11,7, 11,8, 11,9, 12,0, 12,1 или 12,2 дней;
- (iv) в диапазоне от около 9,5 до около 12,5 дней, от около 10 до 11,5 дней;
- (v) от 10 до 11 дней или от 10,5 до 11 дней;
- (vi) от 10 до 11,5 дней, или от 10,5 до 11 дней, или от 10 до 11 дней; и/или
- (vii) 9,5, 9,6, 9,7, 9,8, 9,9, 10,0, 10,1, 10,2, 10,3, 10,4, 10,5, 10,6, 10,7, 10,8, 10,9, 11,0, 11,1, 11,2, 11,3, 11,4, 11,5, 11,6, 11,7, 11,8, 11,9, 12,0, 12,1, 12,2, 12,3, 12,4 или 12,5 дней.

41. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-40, специфически связывающееся с НА и не связывающееся или специфически не связывающееся с мишенью, отличной от НА.

42. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-41, способное связываться с одним или более следующих подтипов IAV: H1, H2, H3, H4, H5, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H17 и H18.

43. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-42, способное предотвращать или ослаблять инфекцию IAV у субъекта.

44. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-43, способное нейтрализовать инфекцию:

- (i) H1N1 IAV, где, необязательно, H1N1 IAV включает одно или более из: A/California/07/2009, A/PR/8/34 и A/Solomon Islands/3/06; и
- (ii) H3N2 IAV, где, необязательно, H3N2 IAV включает одно или более из: A/Aichi/2/68, A/Brisbane/10/07 и A/Hong Kong/68.

45. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-44, способное:

- (iii) нейтрализовать инфекцию H1N1 IAV, необязательно A/California/07/2009, с IC50 в диапазоне от около  $10^3$  до около  $10^4$  нг/мл, необязательно в диапазоне от 2000 до 6000 нг/мл (например, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500 или 6000 нг/мл); и/или
- (iv) нейтрализовать инфекцию H3N2 IAV, необязательно A/Aichi/2/68, с IC50 в

диапазоне от  $10^3$  до  $10^4$  нг/мл, необязательно в диапазоне от 3000 до 10000 нг/мл.

46. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-45, способное нейтрализовать инфекцию:

(i) IAV группы 1, где, необязательно, IAV группы 1 включает или представляет собой H5 IAV, где, дополнительно необязательно, H5 IAV включает или представляет собой H5/VN/11/94 pp; и

(ii) IAV группы 2, где, необязательно, IAV группы 2 включает или представляет собой H7 IAV, где, дополнительно необязательно, H7 IAV включает или представляет собой H7/IT/99 pp,

где, необязательно, нейтрализация инфекции является такой, как определено с применением вируса, псевдотипированного IAV.

47. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 46, способное:

(iii) нейтрализовать инфекцию IAV группы 1, необязательно H5/VN/11/94, с IC50 в диапазоне от около 1 до около 8 нг/мл (например, около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 нг/мл); и

(iv) нейтрализовать инфекцию IAV группы 2, необязательно H7/IT/99 pp, с IC50 в диапазоне от около 10 до около 200 нг/мл.

48. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-47, способное активировать FcγRIIIa человека, который необязательно представляет собой аллель F158.

49. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-48, способное активировать FcγRIIIa человека, который необязательно представляет собой аллель H131.

50. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 48 или п. 49, где активация является такой, как определено с применением клетки-хозяина (необязательно клетки Jurkat), содержащей: (i) (a) FcγRIIIa человека (необязательно аллель F158) и/или (b) FcγRIIIa человека (необязательно аллель H131); и (ii) последовательность контроля экспрессии NFAT (ядерный фактор активированных Т-клеток), функционально связанную с последовательностью, кодирующей репортер, такой как репортер люциферазы,

после инкубации (например, в течение 20 часов) антитела или антигенсвязывающего фрагмента с клеткой-мишенью (например, клеткой A549), инфицированной IAV.

51. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 50, где активация является такой, как определено после инкубации антитела или антигенсвязывающего фрагмента с:

(1) клеткой-мишенью, инфицированной H1N1 IAV, где, необязательно, H1N1 IAV представляет собой A/PR/8/34, и где, необязательно, инфекция имеет множественность заражения (MOI), равную 6; и/или

(2) клеткой-мишенью, инфицированной H3N2 IAV, где, необязательно, H3N2 IAV представляет собой A/Aichi/2/68, и где, необязательно, инфекция имеет множественность заражения (MOI), равную 18.

52. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-51, способное нейтрализовать инфекцию псевдовиром H5 с IC50 менее 4,5 нг/мл, 4,0 нг/мл или менее, 3,0 нг/мл или менее, 2,5 нг/мл или менее, 2,0 нг/мл или менее, 1,5 нг/мл или менее, 1,0 нг/мл или менее, 0,9 нг/мл или менее, 0,8 нг/мл или менее, 0,7 нг/мл или менее, 0,6 нг/мл или менее, 0,5 нг/мл или менее, 0,4 нг/мл или менее, 0,3 нг/мл или менее или 0,2 нг/мл или менее.

53. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-52, способное нейтрализовать инфекцию псевдовиром H5 с IC50 в диапазоне: от около 0,2 до около 4,5 нг/мл, или от около 0,2 до около 4,0 нг/мл, или от около 0,2 до около 3,5 нг/мл, или от около 0,2 до около 3,0 нг/мл, или от около 0,2 до около 2,5 нг/мл, или от около 0,2 до около 2,0 нг/мл, или от около 0,2 до около 1,5 нг/мл, или от около 0,2 до около 1,0 нг/мл, или от около 0,2 до около 0,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 4,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 4,0 нг/мл, или от около 0,5 до около 3,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 3,0 нг/мл, или от около 0,5 до около 2,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 2,0 нг/мл, или от около 0,5 до около 1,5 нг/мл, или от около 0,5 до около 1,0 нг/мл, или от около 1,0 до около 4,5 нг/мл, или от около 1,0 до около 4,0 нг/мл, или от около 1,0 до около 3,5 нг/мл, или от около 1,0 до около 3,0 нг/мл, или от около 1,0 до около 2,5 нг/мл, или от около 1,0 до около 2,0 нг/мл, или от около 1,0 до около 1,5 нг/мл, или от около 1,5 до около 4,5 нг/мл, или от около 1,5 до около 4,0 нг/мл, или от около 1,5 до около 3,5 нг/мл, или от около 1,5 до около 3,0 нг/мл, или от около 1,5 до около 2,5 нг/мл, или от около 1,5 до около 2,0 нг/мл, или от около 2,0 до около 4,5 нг/мл, или от около 2,0 до около 4,0 нг/мл, или от около 2,0 до около 3,5 нг/мл, или от около 2,0 до около 3,0 нг/мл, или от около 2,0 до около 2,5 нг/мл, или от около 2,5 до около 4,5 нг/мл, или от около 2,5 до около 4,0 нг/мл, или от около 2,5 до около 3,5 нг/мл, или от около 2,5 до около 3,0 нг/мл, или от около 3,0 до около 4,5 нг/мл, или от около 3,0 до около 4,0 нг/мл, или от около 3,0 до около 3,5 нг/мл, или от около 3,5 до около 4,5 нг/мл, или от около 3,5 до около 4,0 нг/мл, или от около 4,0 до около 4,5 нг/мл.

54. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-53, способное нейтрализовать инфекцию псевдовиром H5 с IC50 около 0,6 нг/мл, около

0,5 нг/мл, около 0,4 нг/мл, около 0,3 нг/мл или около 0,2 нг/мл.

55. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-54, способное нейтрализовать инфекцию псевдовиром H5 с IC50 0,7 нг/мл или менее, 0,6 нг/мл или менее, 0,5 нг/мл или менее, 0,4 нг/мл или менее, 0,3 нг/мл или менее или 0,20 нг/мл или менее.

56. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-55, способное нейтрализовать инфекцию:

(i) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 850 до около 4500 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1000 до около 5400 нг/мл; и/или

(ii) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 300 до около 2800 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 7600 нг/мл.

57. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-56, способное нейтрализовать инфекцию:

(i) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 880 до около 1120 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1050 до около 1680 нг/мл;

(ii) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 300 до около 2100 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 2700 нг/мл;

(iii) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 1100 до около 2700 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1040 до около 4540 нг/мл;

(iv) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 500 до около 2420 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 680 до около 4570 нг/мл;

(v) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 1030 до около 1680 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1780 до около 4760 нг/мл;

(vi) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 440 до около 2540 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 450 до около 4250 нг/мл;

(vii) H1N1 IAV с IC50 в диапазоне от около 1950 до около 2000 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 2420 до около 5400 нг/мл; и/или

(viii) H3N2 IAV с IC50 в диапазоне от около 880 до около 2820 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне от около 1170 до около 7630 нг/мл.

58. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-57, способное нейтрализовать инфекцию:

(i) H1N1 A/PR/8/34 IAV с IC50 в диапазоне от около 850 до около 2000 нг/мл (например, около 880 нг/мл, около 1000 нг/мл, около 1100 нг/мл, около 2000 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 1050 до около 2400 нг/мл (например, около 1050 нг/мл, около 1850 нг/мл, около 1780 нг/мл, около 2400 нг/мл);

(ii) H1N1 A/Solomon Islands/3/06 IAV с IC50 в диапазоне от около 1100 до около 2700 нг/мл (например, около 1100 нг/мл, около 1680 нг/мл, около 1950 нг/мл, около 2700 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 1680 до около 5400 нг/мл (например, около 1680 нг/мл, около 4500 нг/мл, около 4700 нг/мл, около 5400 нг/мл);

(iii) H3N2 A/Aichi/2/68 IAV с IC50 в диапазоне от около 2100 до около 2900 нг/мл (например, около 2100 нг/мл, около 2400 нг/мл, около 2500 нг/мл, около 2800 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 2700 до около 7600 нг/мл (например, около 2700 нг/мл, около 4200, около 4500 нг/мл, около 7600 нг/мл);

(iv) H3N2 A/Brisbane/10/07 IAV с IC50 в диапазоне от около 300 до около 880 нг/мл (например, около 300 нг/мл, около 440 нг/мл, около 500 нг/мл, около 880 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 1200 нг/мл (например, около 350 нг/мл, около 450 нг/мл, около 680 нг/мл, около 1200 нг/мл);

(v) H1N1 A/CAL/09 IAV с IC50 в диапазоне от около 3100 до около 4500 нг/мл (например, около 3100 нг/мл, около 3600 нг/мл, около 4300 нг/мл, около 4500 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 1200 нг/мл (например, около 350 нг/мл, около 450 нг/мл, около 680 нг/мл, около 1200 нг/мл); и/или

(vi) H3N2 A/НК/68 IAV с IC50 в диапазоне от около 2000 до около 3000 нг/мл (например, около 2000 нг/мл, около 2100 нг/мл, около 2200 нг/мл, около 2300 нг/мл, около 2400 нг/мл, около 2500 нг/мл, около 2600 нг/мл, около 2700 нг/мл, около 2800 нг/мл, около 2900 нг/мл, около 3000 нг/мл), предпочтительно в диапазоне от около 2100 до около 2500 нг/мл.

59. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-58, способное нейтрализовать инфекцию:

(i) H1N1 A/PR/8/34 IAV с IC50 в диапазоне: от около 860 до около 920 нг/мл, от около 1000 до около 1060 нг/мл, от около 1080 до около 1140 нг/мл, или от около 1970 до около 2030 нг/мл и/или с IC90 в диапазоне: от около 1015 до около 1075 нг/мл, от около 1750 до около 1810 нг/мл, от около 1750 до около 1830 нг/мл, или от около 2390 до около 2450 нг/мл;

(ii) H1N1 A/Solomon Islands/3/06 IAV с IC50 в диапазоне от около 1100 до около 2700 нг/мл (например, около 1100 нг/мл, около 1680 нг/мл, около 1950 нг/мл, около 2700 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 1680 до около 5400 нг/мл (например, около 1680 нг/мл, около 4500 нг/мл, около 4700 нг/мл, около 5400 нг/мл);

(iii) H3N2 A/Aichi/2/68 IAV с IC50 в диапазоне от около 2100 до около 2900 нг/мл (например, около 2100 нг/мл, около 2400 нг/мл, около 2800 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 2700 до около 7600 нг/мл (например, около 2700 нг/мл, около 4200,

около 4500 нг/мл, около 7600 нг/мл); и/или

(iv) H3N3 A/Brisbane/10/07 IAV с IC50 в диапазоне от около 300 до около 880 нг/мл (например, около 300 нг/мл, около 440 нг/мл, около 500 нг/мл, около 88 нг/мл) и/или с IC90 в диапазоне от около 350 до около 1200 нг/мл (например, около 350 нг/мл, около 450 нг/мл, около 680 нг/мл, около 1200 нг/мл).

60. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-59, способное связываться с одним или более из следующих подтипов H3N2 IAV: A/Babol/36/2005; A/Hong Kong/CUHK31987/2011; A/Texas/50/2012; A/Wisconsin/67/2005; A/Netherlands/178/1995; A/Johannesburg/33/1994; A/Guangdong-Luohu/1256/2009; A/California/7/2004; A/Hanoi/EL134/2008; A/Wuhan/359/1995; A/Victoria/210/2009; A/Philippines/472/2002; A/Hanoi/EL201/2009; A/Victoria/210/2009; A/Missouri/09/2014; A/Perth/16/2009; A/Wyoming/03/2003; A/Moscow/10/1999; A/Sydney/5/1997; A/Nanchang/933/1995; A/Beijing/32/92; A/Aichi/2/1968; A/Brisbane/10/2007 и A/Switzerland/9715293/2013.

61. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 60, способное связываться с одним или более из подтипов H3N2 IAV с logEC50 (нг/мл) в диапазоне: от около 0,1 до около 6, от около 0,1 до около 5,5, от около 1 до около 5, от около 0,1 до около 4,5, от около 0,1 до около 4,0, от около 0,1 до около 3,5, от около 0,1 до около 3, от около 0,1 до около 2,5, от около 0,1 до около 2,0, от 0,1 до около 1,5, от 0,1 до около 1,0, или около 1,9, около 1,8, около 1,7, около 1,6, около 1,5, около 1,4, около 1,3, около 1,2, около 1,1, около 1,0, около 0,9, около 0,8, около 0,7, около 0,6, около 0,5, около 0,4, около 0,3, около 0,2 или около 0,1 нг/мл,

где связывание является таким, как определено с помощью ELISA.

62. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-61, способное связываться с одним или более из (i)-(iv):

(i) H1 HA, необязательно включающий одно или более из: A/England/195/2009; A/Brisbane/59/2007; A/Solomon Islands/3/2006; A/New Caledonia/20/99; A/Texas/36/1991; A/Taiwan/01/1986; A/New Jersey/8/1976; A/Albany/12/1951; A/Fort Monmouth/1/1947; A/New York/1/1918; A/Puerto Rico/8/34 и A/California/07/2009;

(ii) H2 HA, необязательно включающий A/Japan/305/1957;

(iii) H5 HA, необязательно включающий A/Vietnam/1194/2004; и

(iv) H9 HA, необязательно включающий A/Hong Kong/1073/99.

63. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-62, связывающееся с H5 HA и/или H7 HA с KD менее 1,0E-12 M, менее 1,0E-11 M, менее 1,0E-10 M, менее 1,0E-9 M, менее 1,0E-8 M или менее 1,0E-7 M или 1,0E-8M или менее,

1,0E-9M или менее, 1,0E-10 или менее, 1,0E-11 или менее или 1,0E-12 или менее (например, как определено с помощью биослойной интерферометрии (BLI)).

64. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 62, способное связываться с одним или более из (i)-(iv) с  $\log EC_{50}$  (нг/мл) в диапазоне: от около 0,05 до около 1,5, от около 0,05 до около 1,4, от около 0,05 до около 1,3, от около 0,05 до около 1,2, от около 0,05 до около 1,1, от около 0,05 до около 1,0, от около 0,05 до около 0,9, от около 0,05 до около 0,8, от около 0,05 до около 0,7, от около 0,05 до около 0,6, от около 0,05 до около 0,5, от около 0,1 до около 1, или около 1,3, около 1,2, около 1,1, около 1,0, около 0,9, около 0,8, около 0,7, около 0,6, около 0,5, около 0,4, около 0,3, около 0,2, около 0,1 или около 0,05,

где связывание является таким, как определено с помощью ELISA.

65. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-64, представляющее собой изотип IgG, IgA, IgM, IgE или IgD.

66. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-65, представляющее собой изотип IgG, выбранный из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

67. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-66, являющееся человеческим, гуманизированным или химерным.

68. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-67, включающее человеческое антитело, моноклональное антитело, очищенное антитело, одноцепочечное антитело, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> или Fv, такой как scFv.

69. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-68, представляющее собой мультиспецифическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент.

70. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 69, представляющее собой биспецифическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент.

71. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-70, дополнительно содержащее полипептид Fc или его фрагмент, где, необязательно, полипептид Fc или его фрагмент представляет собой изотип IgG1.

72. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 71, где полипептид Fc или его фрагмент содержит:

(i) мутацию, увеличивающую период полувыведения *in vivo* антитела или антигенсвязывающего фрагмента, по сравнению с антителом или антигенсвязывающим фрагментом, содержащим референсный (например, нативный того же изотипа) полипептид Fc или его фрагмент, который не содержит указанную мутацию; и/или

(ii) мутацию, увеличивающую аффинность связывания с FcγR человека

(например, FcγRIIa и/или FcγRIIIa), по сравнению с референсным полипептидом Fc, который не содержит указанную мутацию.

73. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 72, где мутация, увеличивающая период полувыведения *in vivo* антитела или антигенсвязывающего фрагмента, включает: M428L; N434S; N434H; N434A; N434S; M252Y; S254T; T256E; T250Q; P257I; Q311I; D376V; T307A; E380A или любую их комбинацию,

где нумерация аминокислот Fc соответствует системе нумерации EU.

74. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 72 или п. 73, где мутация, увеличивающая период полувыведения *in vivo* антитела или антигенсвязывающего фрагмента, включает:

- (i) M428L/N434S;
- (ii) M252Y/S254T/T256E;
- (iii) T250Q/M428L;
- (iv) P257I/Q311I;
- (v) P257I/N434H;
- (vi) D376V/N434H;
- (vii) T307A/E380A/N434A или
- (viii) любую комбинацию (i)-(vii).

75. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 72-74, где мутация, увеличивающая период полувыведения *in vivo*, включает M428L/N434S.

76. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 72-75, где мутация, увеличивающая связывание с FcγR, включает S239D; I332E; A330L; G236A или любую их комбинацию,

где нумерация аминокислот Fc соответствует системе нумерации EU.

77. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 72-76, где мутация, увеличивающая связывание с FcγR, включает:

- (i) S239D/I332E;
- (ii) S239D/A330L/I332E;
- (iii) G236A/S239D/I332E или
- (iv) G236A/A330L/I332E, необязательно не включающая S239D, дополнительно необязательно включающая S в положении 239.

78. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-77, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент:

- (i) содержит мутацию, изменяющую гликозилирование, включающую N297A, N297Q или N297G; и/или

(ii) является агликозилированным и/или фукозилированным.

79. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-78, содержащее CH1-CH3, содержащие или состоящие из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 47 или 49.

80. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-79, содержащее CL, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 48.

81. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее две тяжелые цепи и две легкие цепи, где:

(i) каждая из двух тяжелых цепей содержит или состоит из (1) переменного домена тяжелой цепи (VH), где VH содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 37, и (2) CH1-CH3, содержащих или состоящих из аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 47 или 49; и

(ii) каждая из двух легких цепей содержит или состоит из (1) переменного домена легкой цепи (VL), где VL содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8, и (2) CL, содержащей или состоящей из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 48.

82. Выделенный полинуклеотид, кодирующий антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-81 или кодирующий VH, тяжелую цепь, VL и/или легкую цепь антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

83. Полинуклеотид по п. 82, содержащий дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) или рибонуклеиновую кислоту (РНК), где РНК необязательно включает матричную РНК (мРНК).

84. Полинуклеотид по п. 82 или п. 83, содержащий модифицированный нуклеозид, структуру кэп-1, структуру кэп-2 или любую их комбинацию.

85. Полинуклеотид по п. 84, содержащий псевдоуридин, N6-метиладенозин, 5-метилцитидин, 2-тиоуридин или любую их комбинацию.

86. Полинуклеотид по п. 85, где псевдоуридин включает N1-метилпсевдоуридин.

87. Полинуклеотид по любому из пп. 82-86, являющийся кодон-оптимизированным для экспрессии в клетке-хозяине.

88. Полинуклеотид по п. 87, где клетка-хозяин включает человеческую клетку.

89. Полинуклеотид по любому из пп. 82-88, включающий полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 50% (например, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более) идентичность

полинуклеотидной последовательности согласно одной или более из SEQ ID NO: 1, 6, 7, 12, 25, 27, 30, 33, 36, 13, 18, 19, 24, 38 и 40.

90. Полинуклеотид по любому из пп. 82-89, включающий:

(i) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 6, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 12;

(ii) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 25, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 12;

(iii) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 27, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 12;

(iv) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 30, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 12;

(v) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 33, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 12;

(vi) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 36, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 12;

(vii) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 18, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 24;

(viii) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или

содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 38, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 24; или

(ix) полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 40, и полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 75% идентичность, или содержащий или состоящий из, полинуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 24.

91. Рекомбинантный вектор, содержащий полинуклеотид по любому из пп. 82-90.

92. Клетка-хозяин, содержащая полинуклеотид по любому из пп. 82-90 и/или вектор по п. 91, где полинуклеотид является гетерологичным по отношению к клетке-хозяину, и где клетка-хозяин способна экспрессировать кодируемое антитело или антигенсвязывающий фрагмент.

93. Выделенная В-клетка человека, содержащая полинуклеотид по любому из пп. 82-90 и/или вектор по п. 91, где полинуклеотид является гетерологичным по отношению к В-клетке человека, и/или где В-клетка человека является иммортализованной.

94. Композиция, содержащая:

- (i) антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-81;
- (ii) полинуклеотид по любому из пп. 82-90;
- (iii) рекомбинантный вектор по п. 91;
- (iv) клетку-хозяина по п. 92 и/или
- (v) В-клетку человека по п. 93

и фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель или разбавитель.

95. Композиция по п. 94, содержащая первое антитело или антигенсвязывающий фрагмент и второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент, где каждое из первого антитела или антигенсвязывающего фрагмента и второго антитела или антигенсвязывающего фрагмента является различным, и каждое независимо соответствует любому из пп. 1-81.

96. Композиция, содержащая полинуклеотид по любому из пп. 82-90 или вектор по п. 91, инкапсулированный в молекулу-носитель, где молекула-носитель необязательно включает липид, средство доставки, полученное из липида, такое как липосома, твердая липидная наночастица, маслянистая суспензия, субмикронная липидная эмульсия, липидный микропузырь, обратная липидная мицелла, кохлеарная липосома, липидная микротрубочка, липидный микроцилиндр, липидная наночастица (LNP) или

наноразмерная платформа.

97. Способ получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-81, включающий культивирование клетки-хозяина по п. 92 или В-клетки человека по п. 93 в течение времени и в условиях, достаточных для экспрессии антитела или антигенсвязывающего фрагмента указанной клеткой-хозяином или В-клеткой человека.

98. Способ по п. 97, дополнительно включающий выделение антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

99. Способ лечения или предотвращения инфекции вирусом гриппа А у субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества:

- (i) антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-81;
- (ii) полинуклеотида по любому из пп. 82-90;
- (iii) рекомбинантного вектора по п. 91;
- (iv) клетки-хозяина по п. 92;
- (v) В-клетки человека по п. 93 и/или
- (vi) композиции по любому из пп. 94-96.

100. Способ лечения или предотвращения инфекции гриппа у субъекта-человека, включающий введение указанному субъекту полинуклеотида по любому из пп. 82-90, рекомбинантного вектора по п. 91 или композиции по п. 96, где полинуклеотид содержит мРНК.

101. Способ по п. 100, где инфекция гриппа включает инфекцию IAV.

102. Способ по любому из пп. 99-101, включающий введение субъекту однократной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, полипептида, полинуклеотида, рекомбинантного вектора, клетки-хозяина или композиции.

103. Способ по любому из пп. 99-102, включающий введение субъекту двух или более доз антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, полипептида, полинуклеотида, рекомбинантного вектора, клетки-хозяина или композиции.

104. Способ по любому из пп. 99-103, включающий введение субъекту дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, полипептида, полинуклеотида, рекомбинантного вектора, клетки-хозяина или композиции один раз в течение года, необязательно до или во время сезона гриппа.

105. Способ по любому из пп. 99-103, включающий введение субъекту дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, полипептида, полинуклеотида, рекомбинантного вектора, клетки-хозяина или композиции два или более раз в течение года; например, примерно один раз в 6 месяцев.

106. Способ по любому из пп. 99-105, включающий введение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, полипептида, полинуклеотида, рекомбинантного вектора, клетки-хозяина или композиции внутримышечно, подкожно или внутривенно.

107. Способ по любому из пп. 99-106, где лечение и/или предотвращение включает постэкспозиционную профилактику.

108. Способ по любому из пп. 99-107, где субъект получил, получает или будет получать противовирусный агент.

109. Способ по п. 108, где противовирусный агент включает ингибитор нейраминидазы, ингибитор полимеразы гриппа или и то, и другое.

110. Способ по п. 108 или п. 109, где противовирусный агент включает осельтамивир, занамивир, балоксавир или любую их комбинацию.

111. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-81, полинуклеотид по любому из пп. 82-90, рекомбинантный вектор по п. 91, клетка-хозяин по п. 92, В-клетка человека по п. 93 и/или композиция по любому из пп. 94-96, используемые в способе лечения или предотвращения инфекции вирусом гриппа А у субъекта.

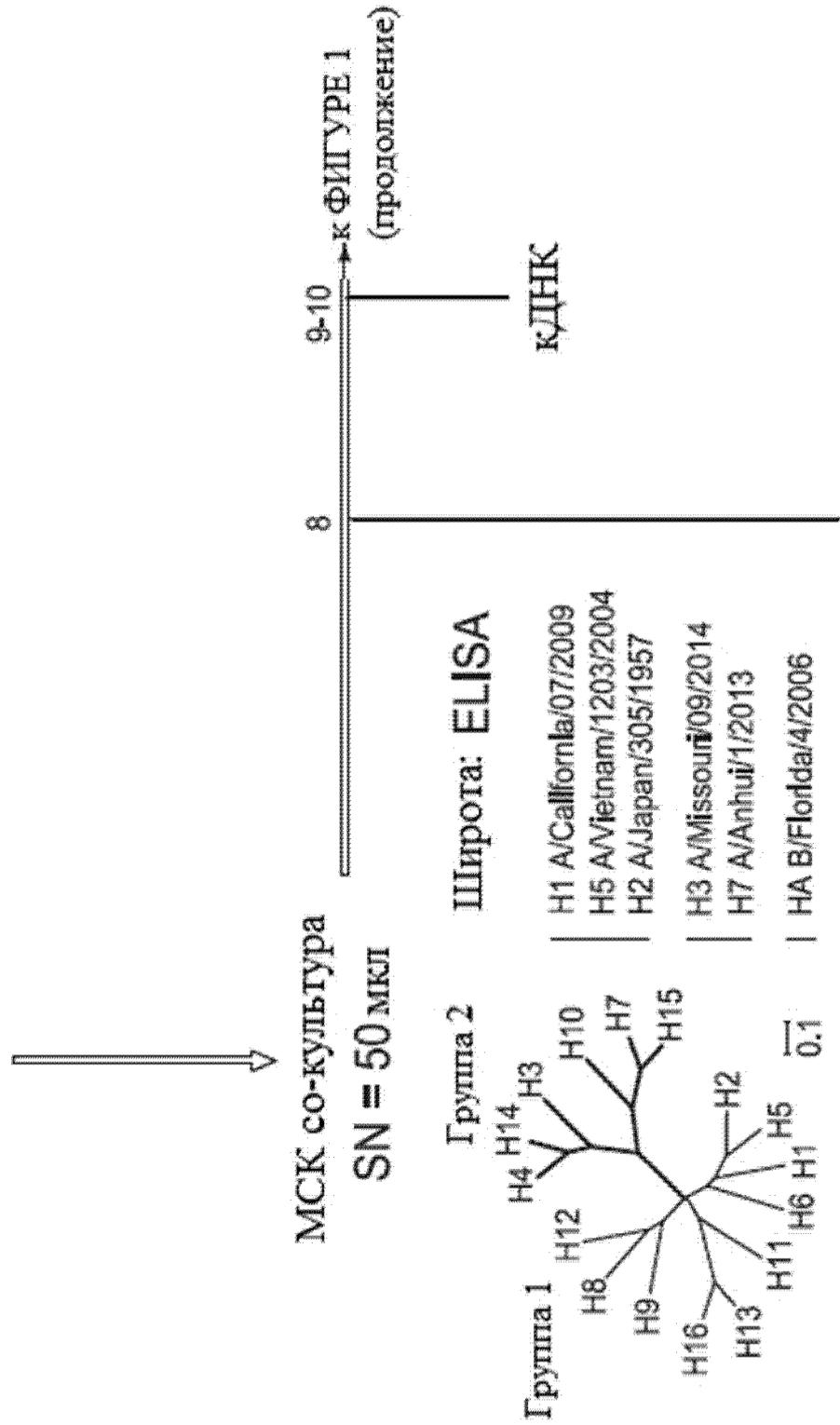
112. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-81, полинуклеотид по любому из пп. 82-90, рекомбинантный вектор по п. 91, клетка-хозяин по п. 92, В-клетка человека по п. 93 и/или композиция по любому из пп. 94-96, используемые в получении лекарственного препарата для лечения инфекции вирусом гриппа у субъекта.

113. Способ диагностики инфекции вирусом гриппа А *in vitro*, включающий:

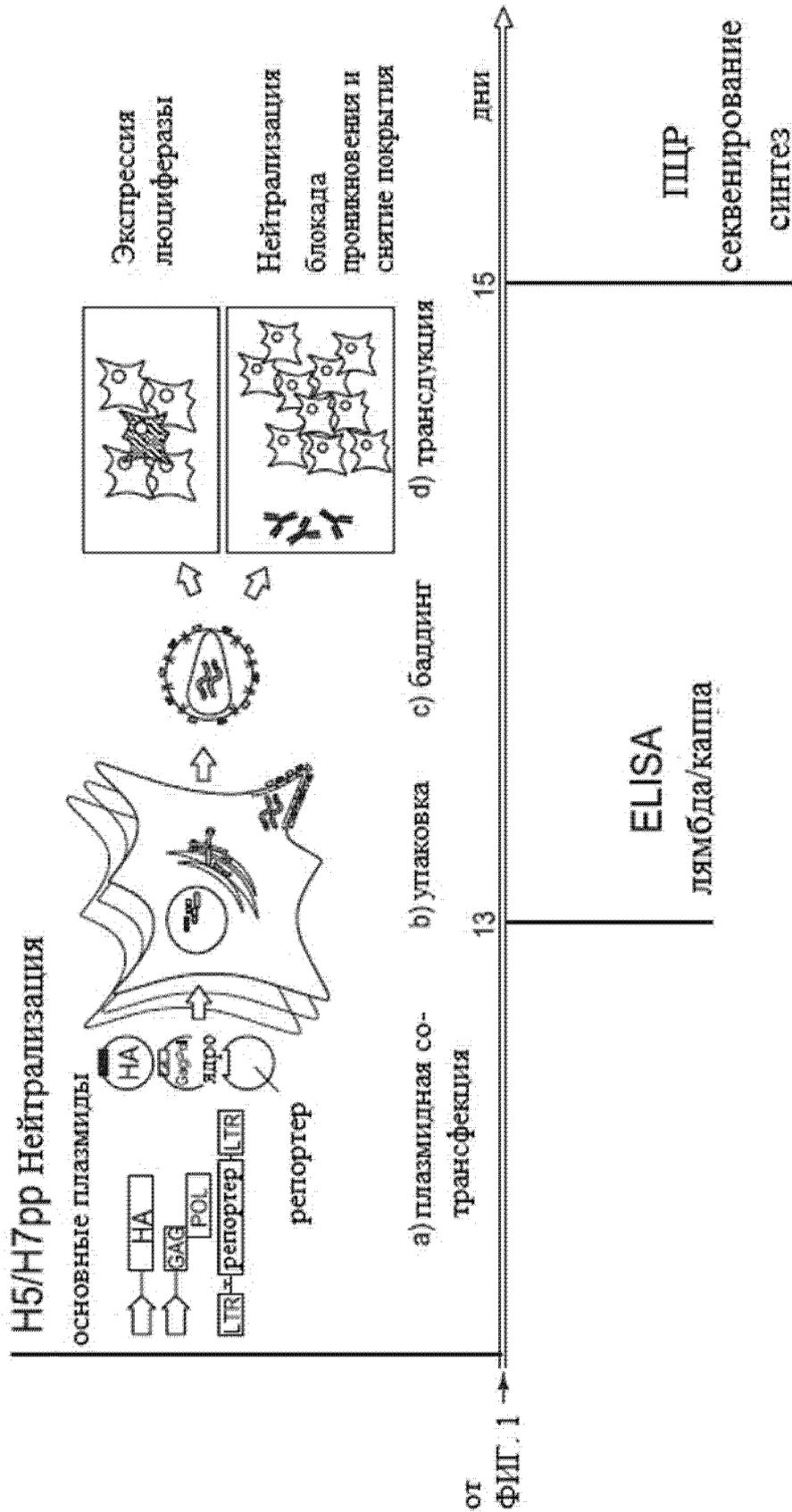
(i) приведение в контакт образца, полученного от субъекта, с антителом или антигенсвязывающим фрагментом по любому из пп. 1-81 и

(ii) обнаружение комплекса, содержащего антиген и антитело или содержащего антиген и антигенсвязывающий фрагмент.

Доноры = 5  
В колич. опрошенных = 55 млн.  
H5+ В клеток отсортированных = 6700

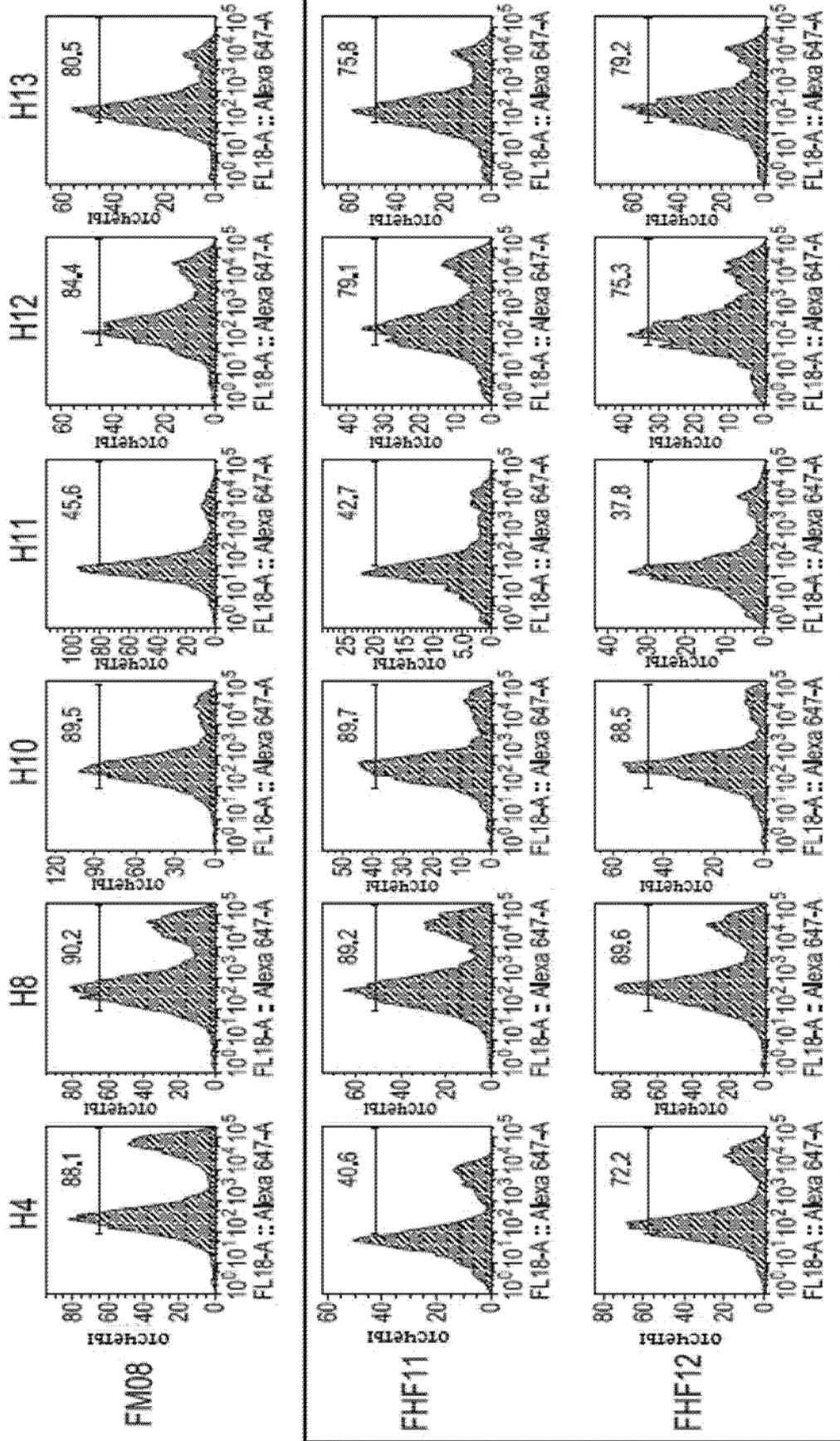


ФИГУРА 1



ФИГУРА 1 (продолжение)

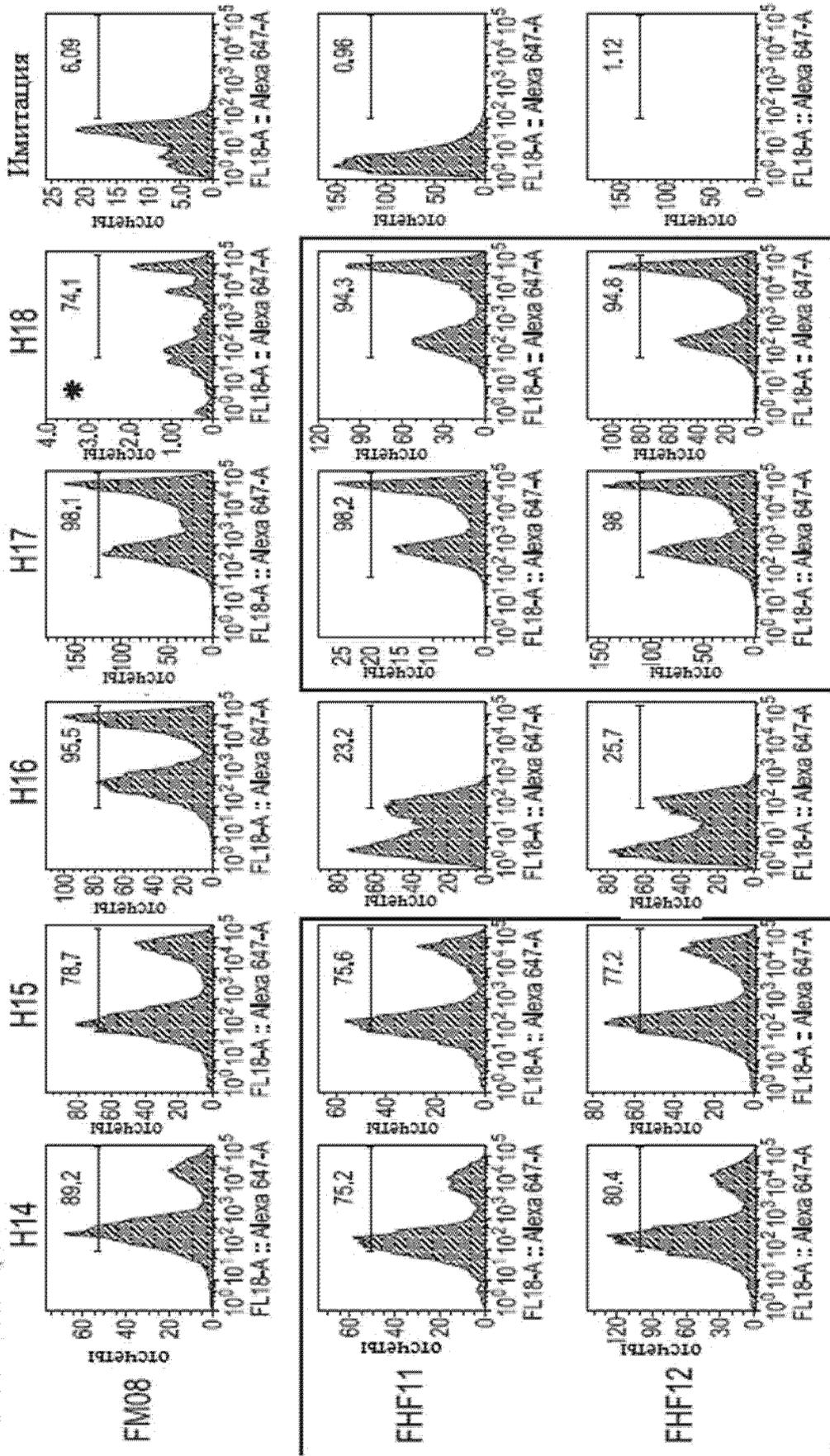
FAСS связывание FHF11 и FHF12 с IAV HA, циркулирующим в животном-резервуаре, экспрессируемом в клетках млекопитающего



Флуоресценция

ФИГУРА 2

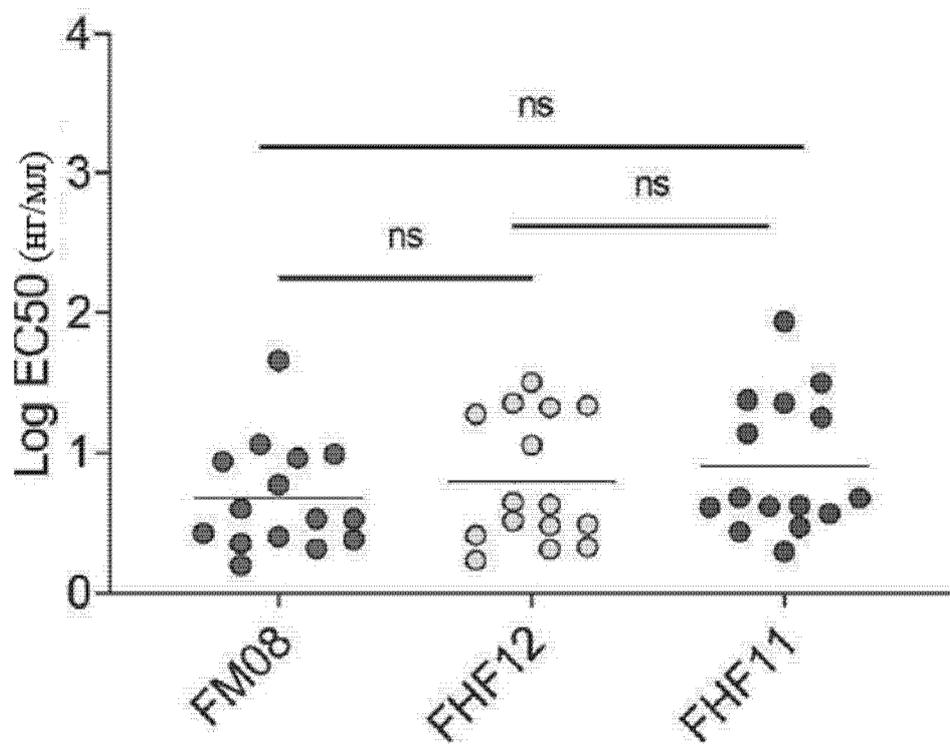
FACS связывание FHF11 и FHF12 с IAV HA, циркулирующим в животном-резервуаре, экспрессируемом в клетках млекопитающего



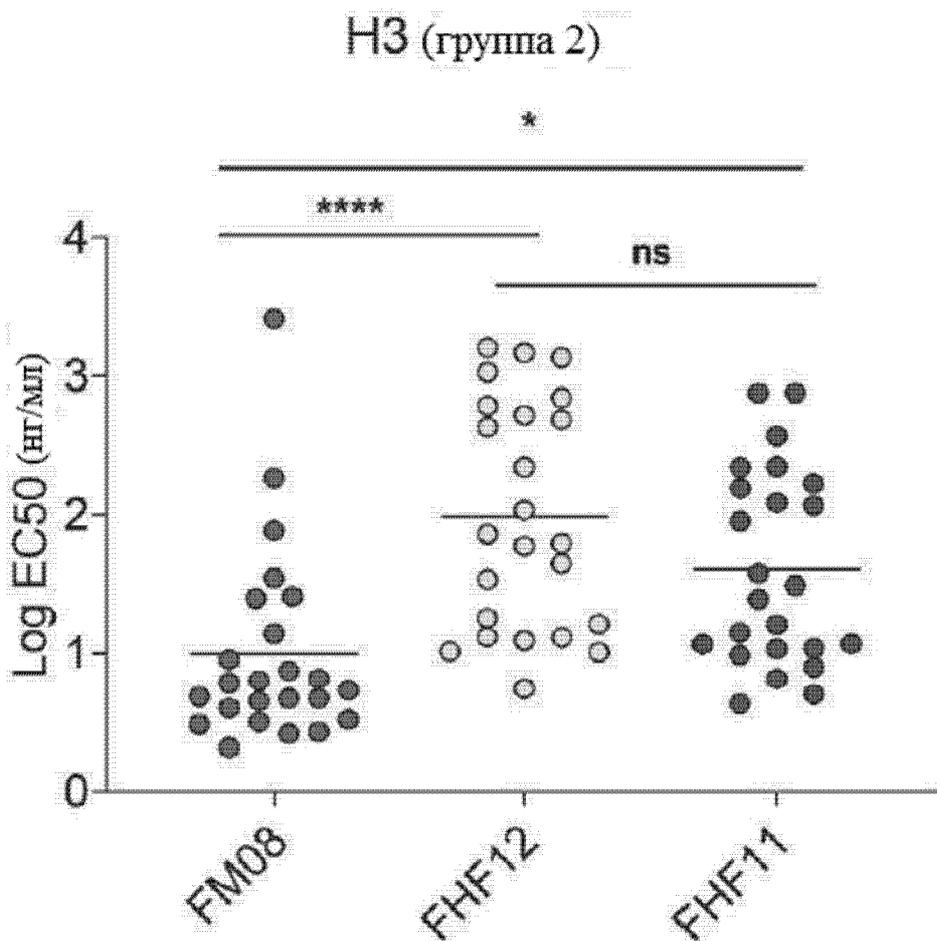
\* ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ УСТАНОВКИ

ФИГУРА 2 (продолжение)

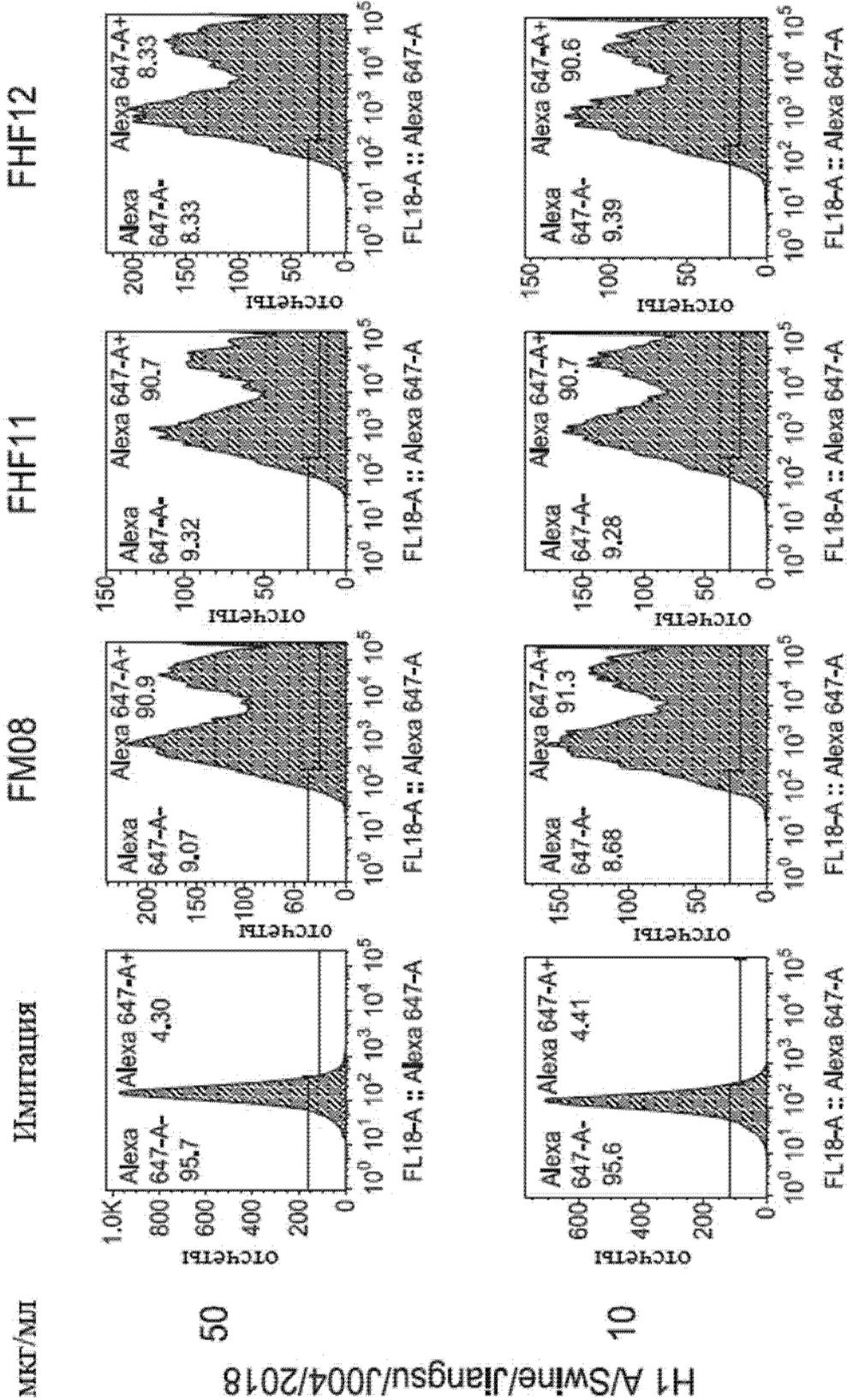
H1, H2, H5, H9 (група 1)



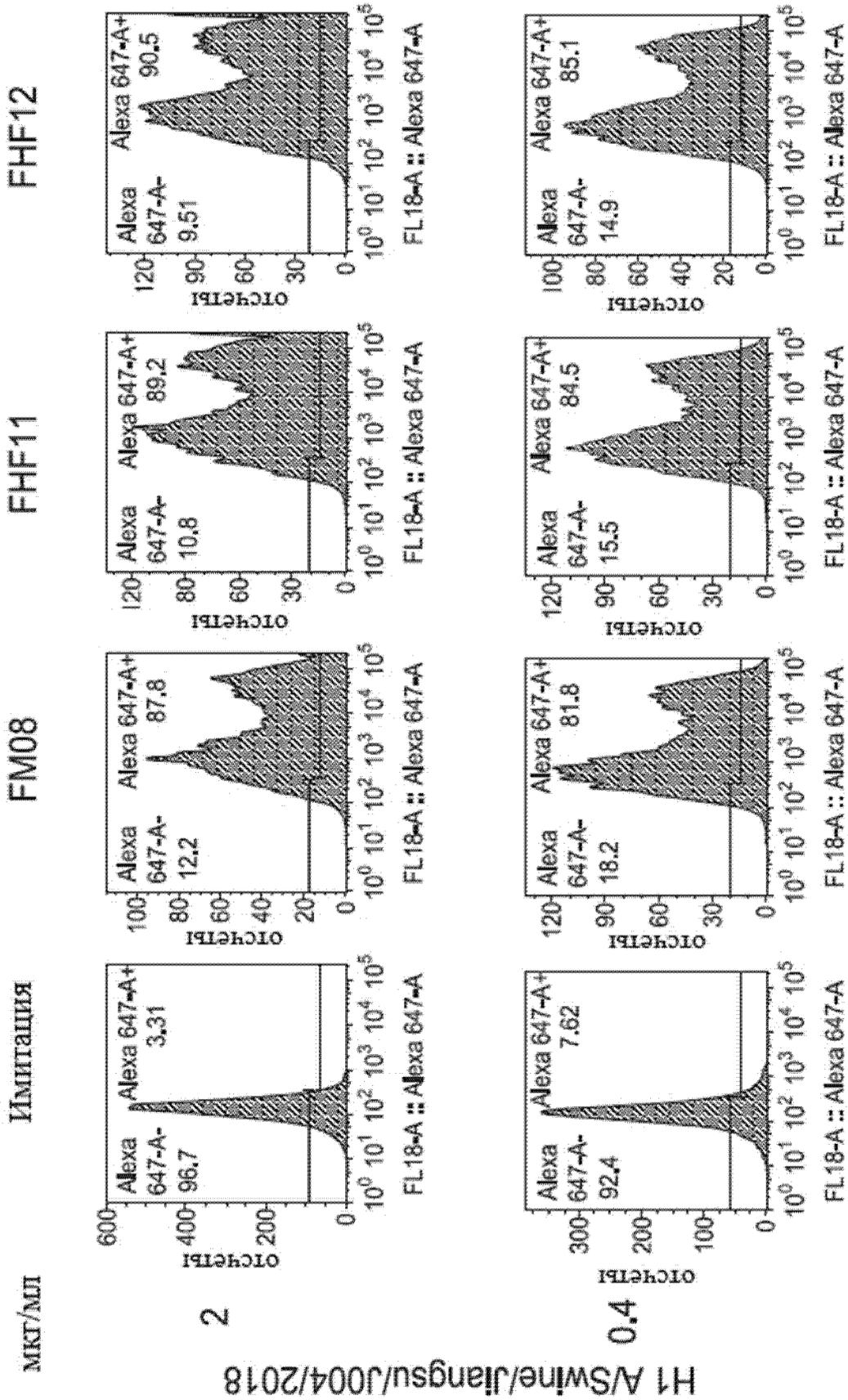
ФИГУРА 3А



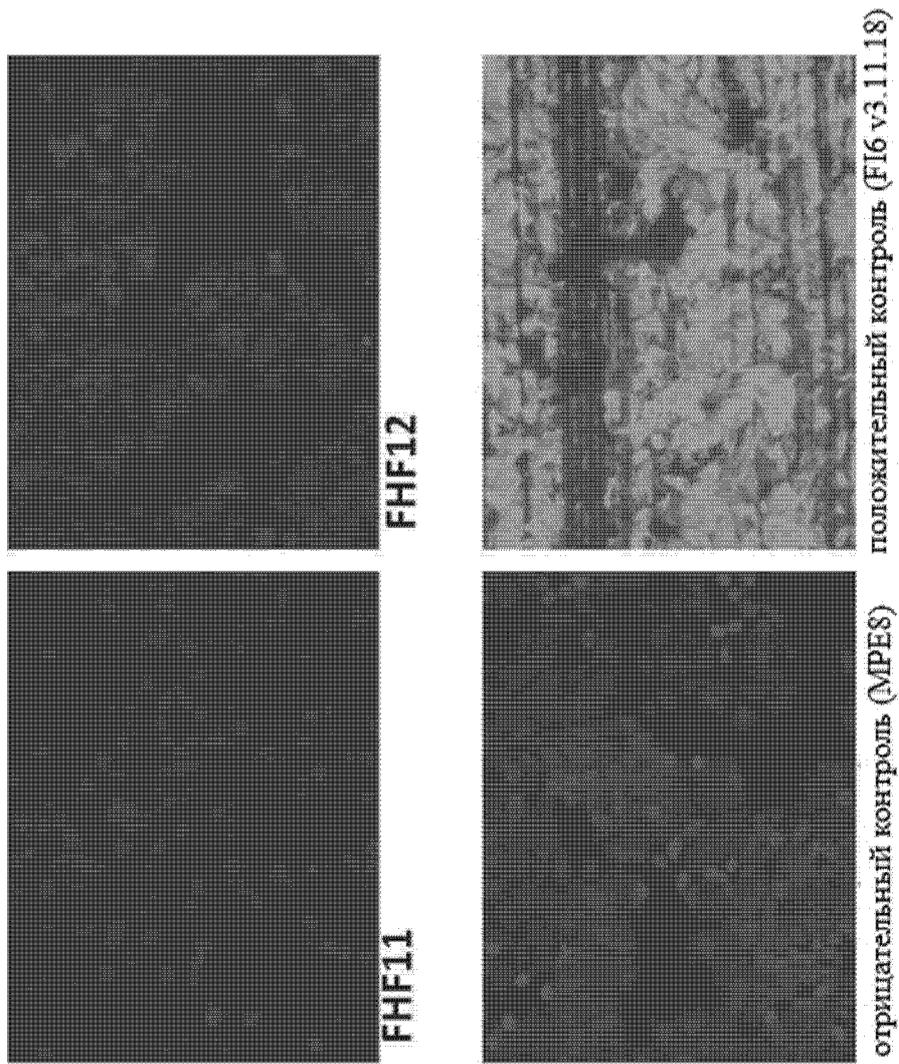
ФИГУРА 3В



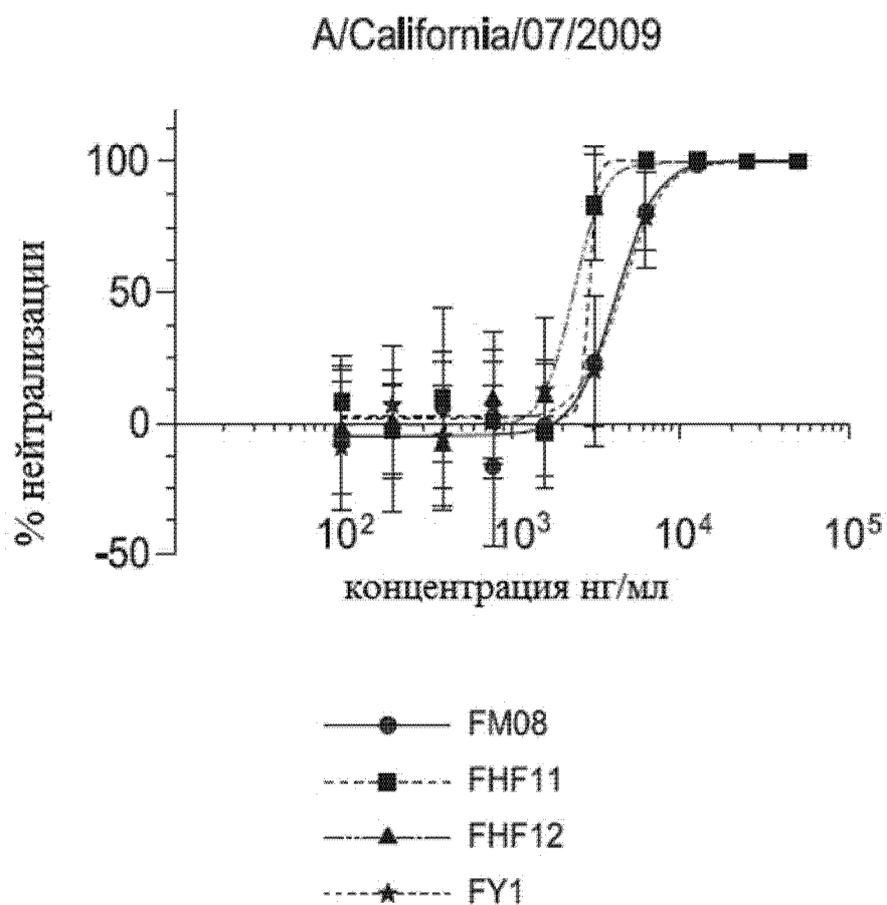
ФИГУРА 4



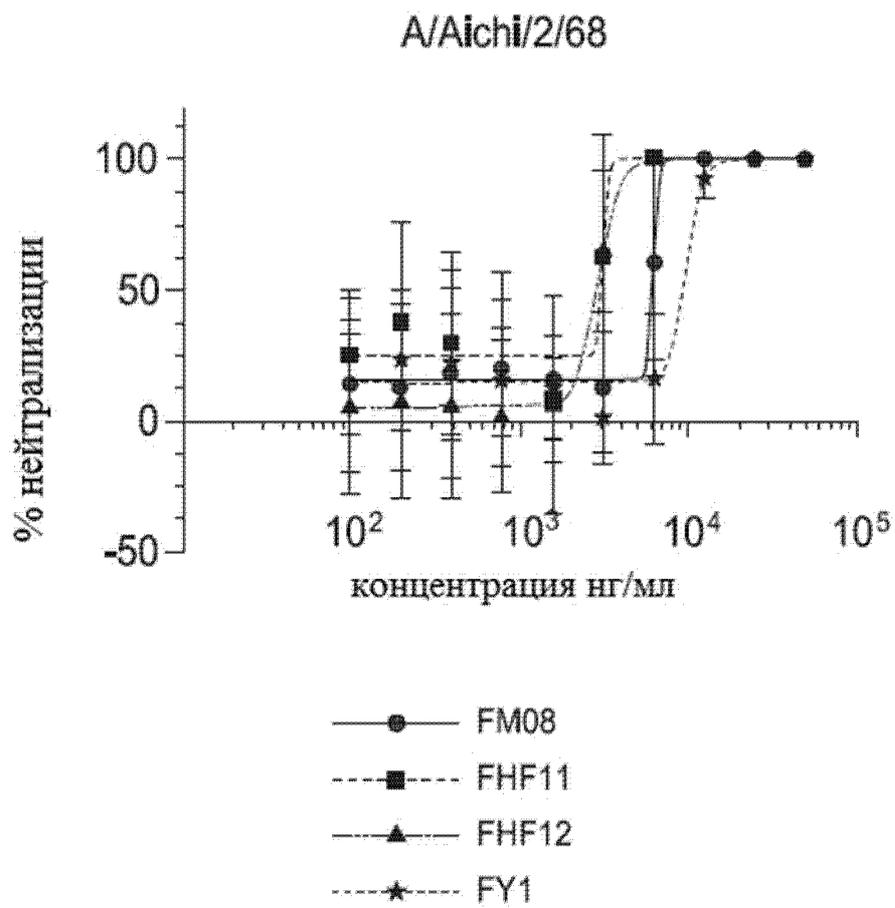
ФИГУРА 4 (продолжение)



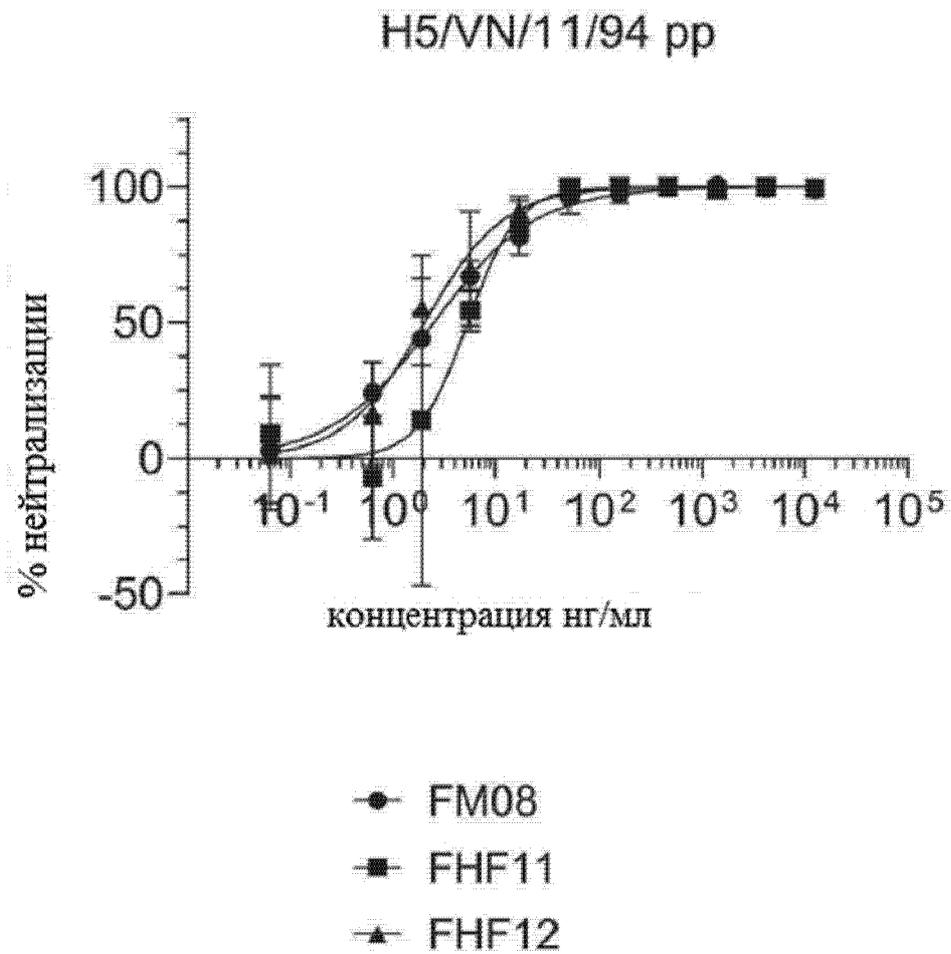
ФИГУРА 5



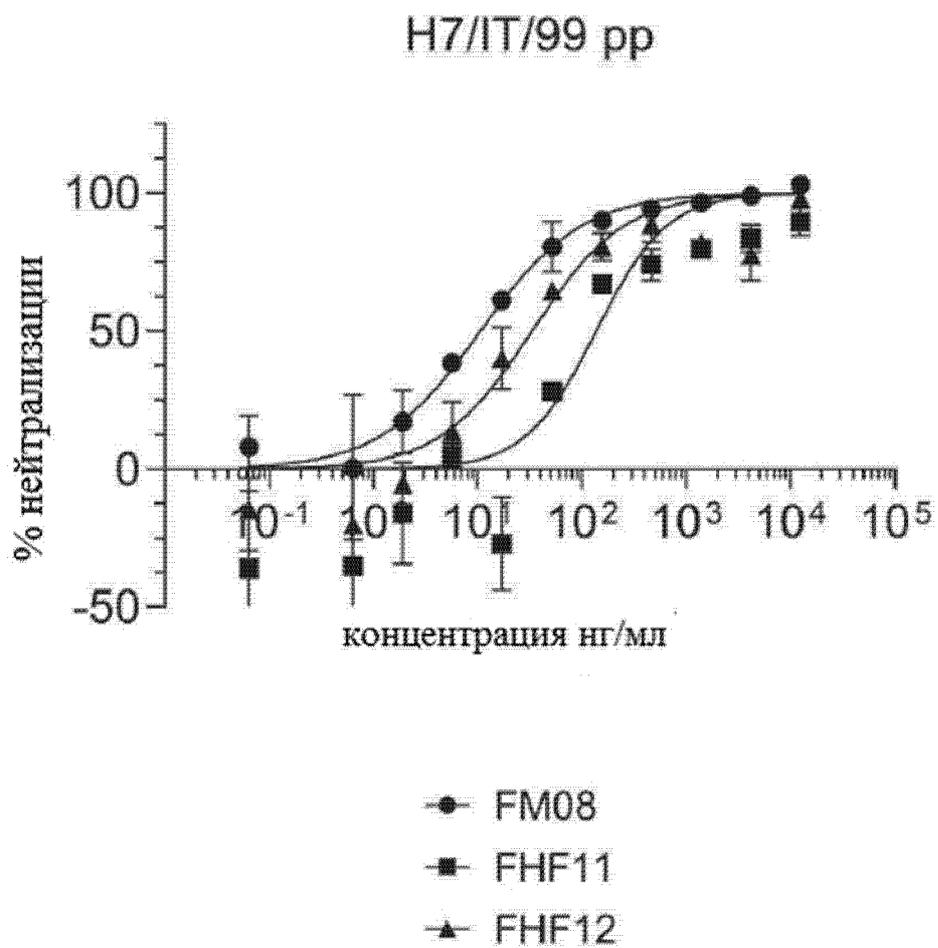
ФИГУРА 6А



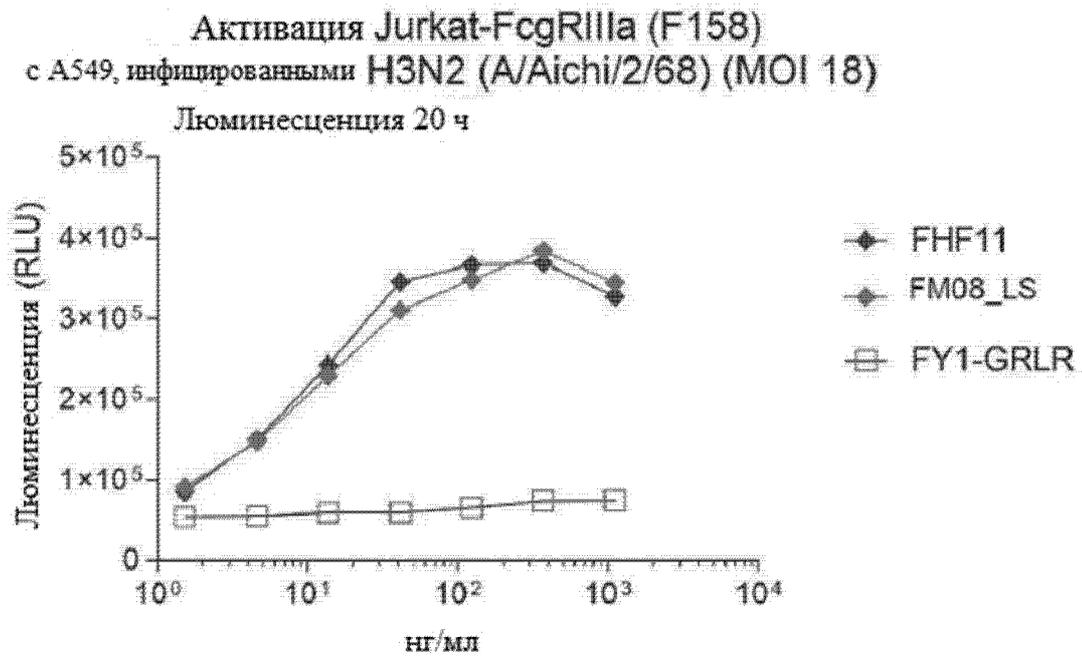
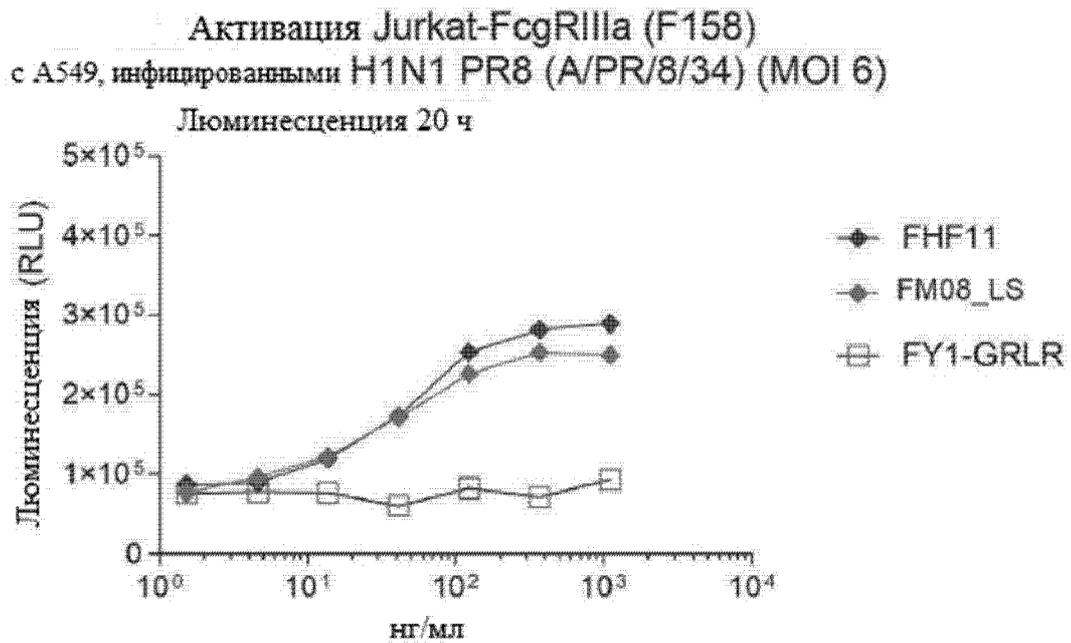
ФИГУРА 6В



ФИГУРА 7А

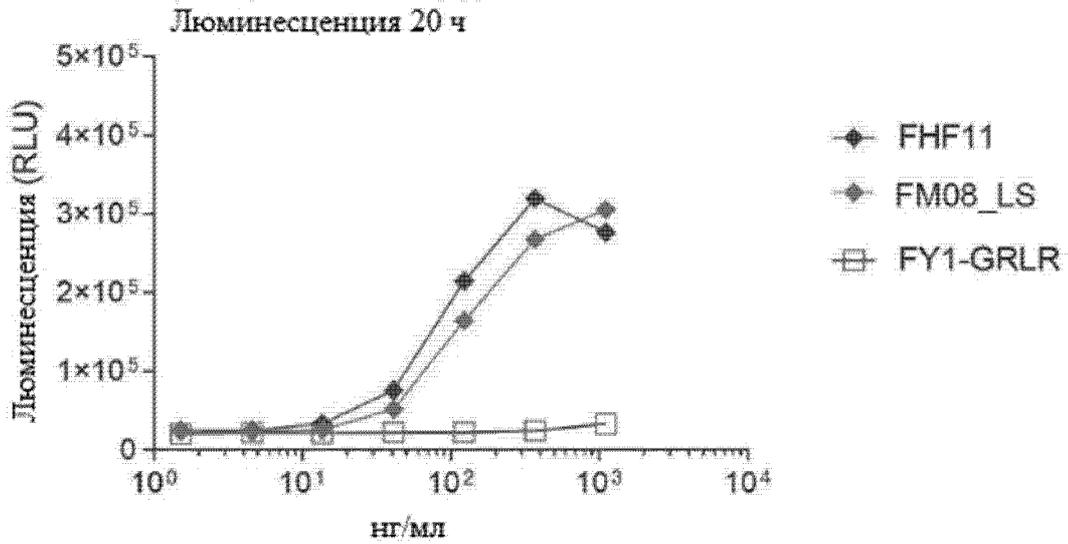


ФИГУРА 7В

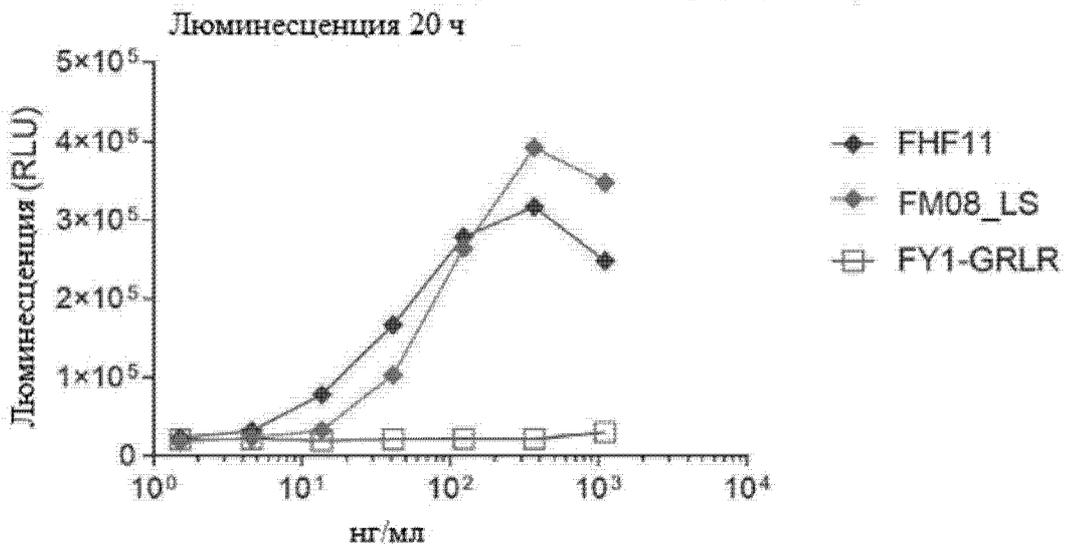


ФИГУРА 8А

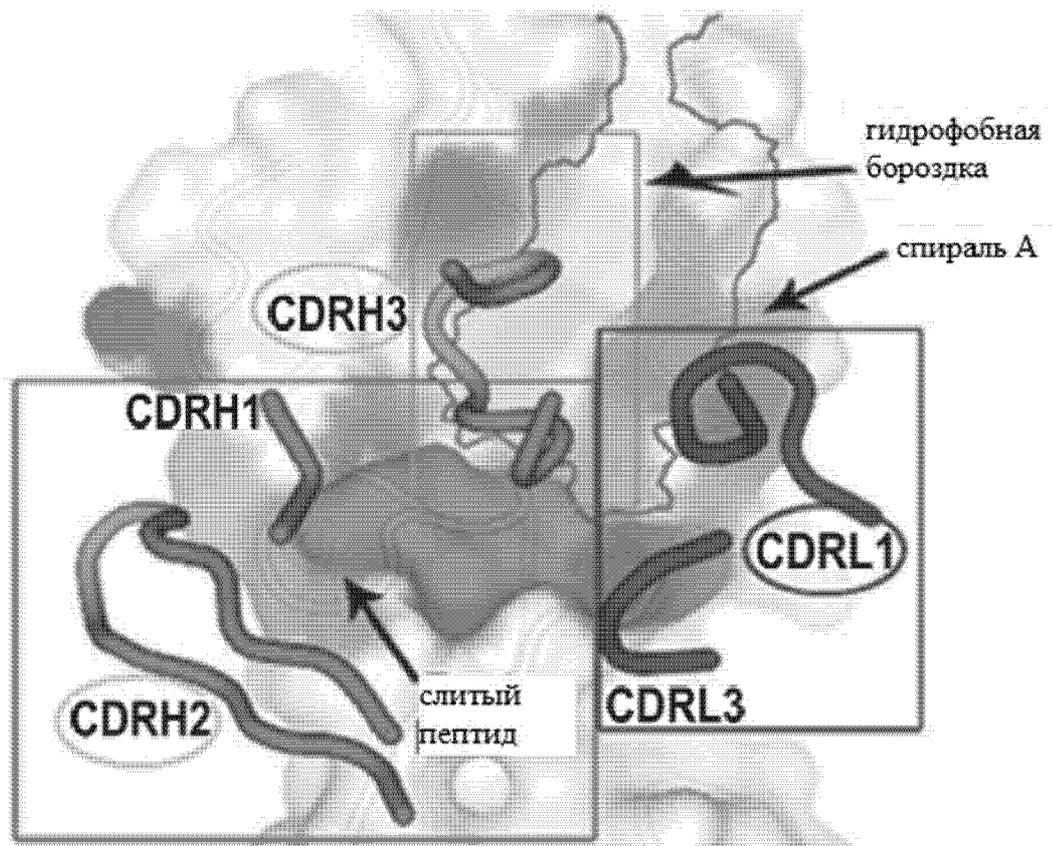
Активация Jurkat-FcγRIIa (H131)  
с A549, инфицированными H1N1 PR8 (A/PR/8/34) (MOI 6)



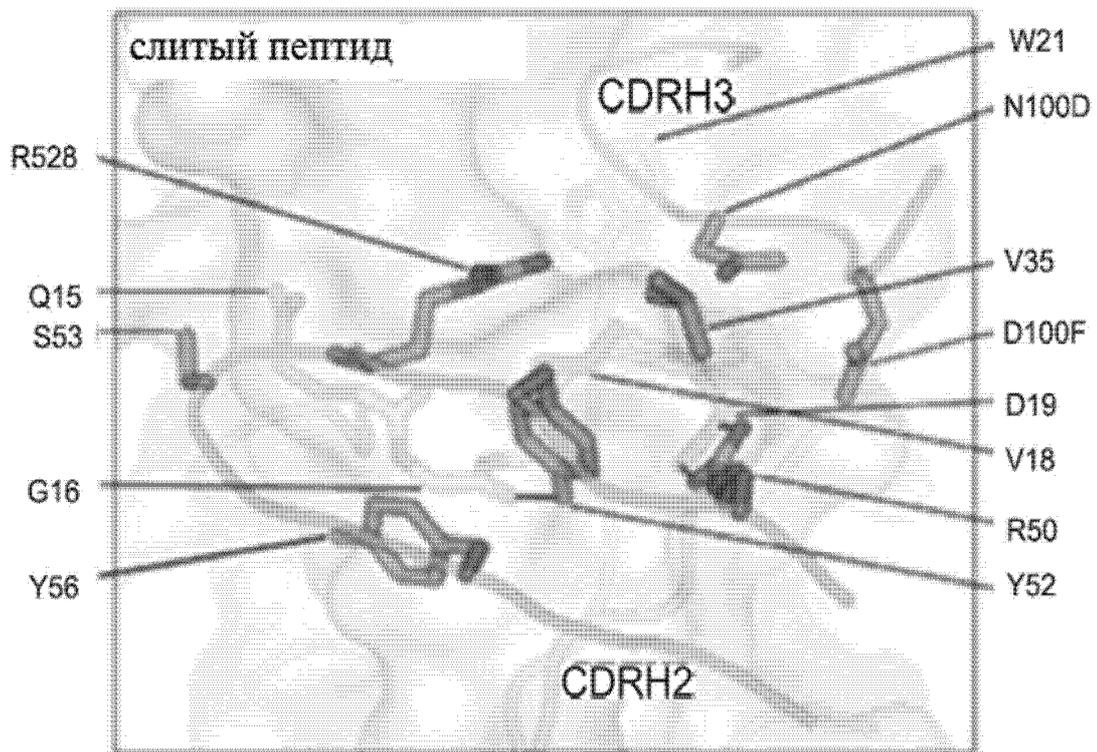
Активация Jurkat-FcγRIIa (H131)  
с A549, инфицированными H3N2 (A/Aichi/2/68) (MOI 18)



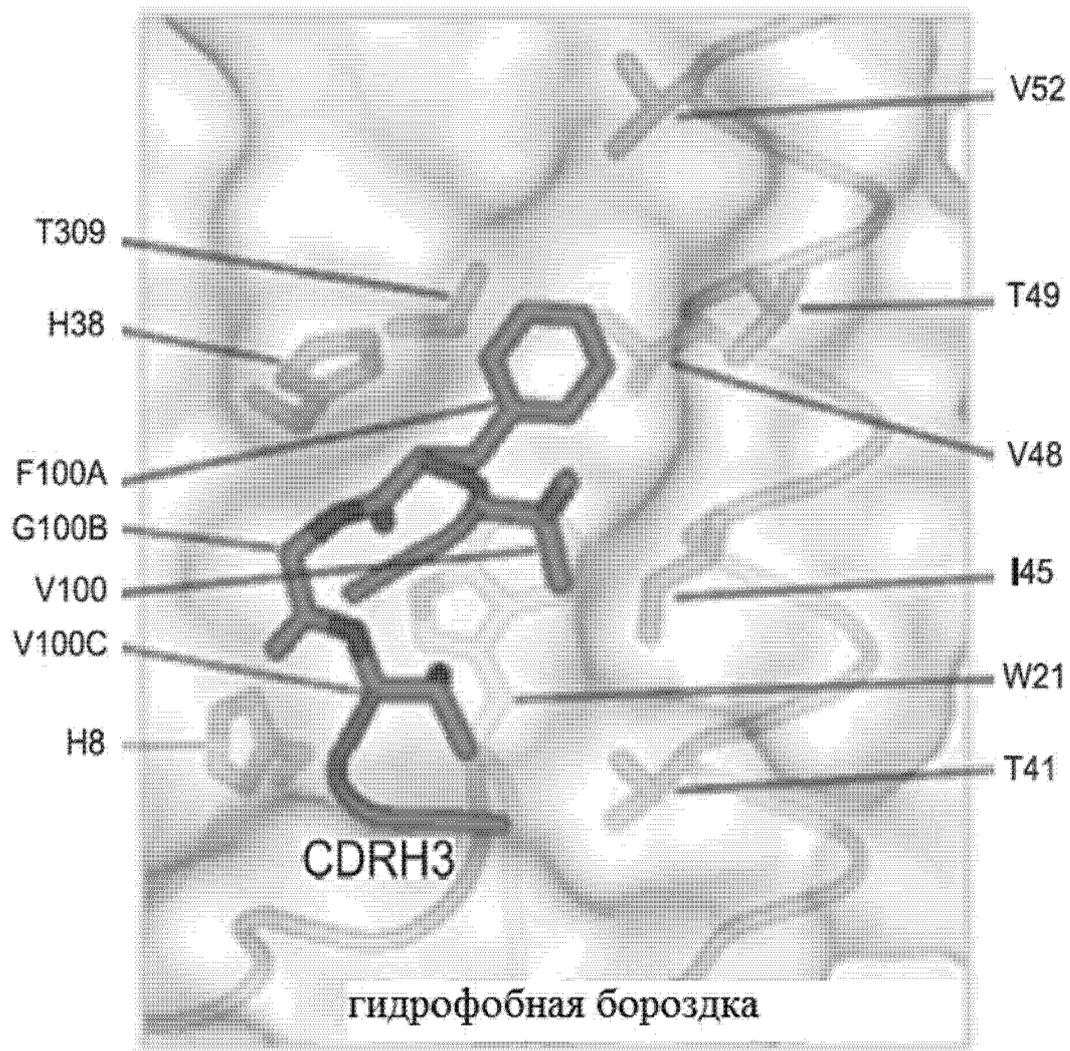
ФИГУРА 8В



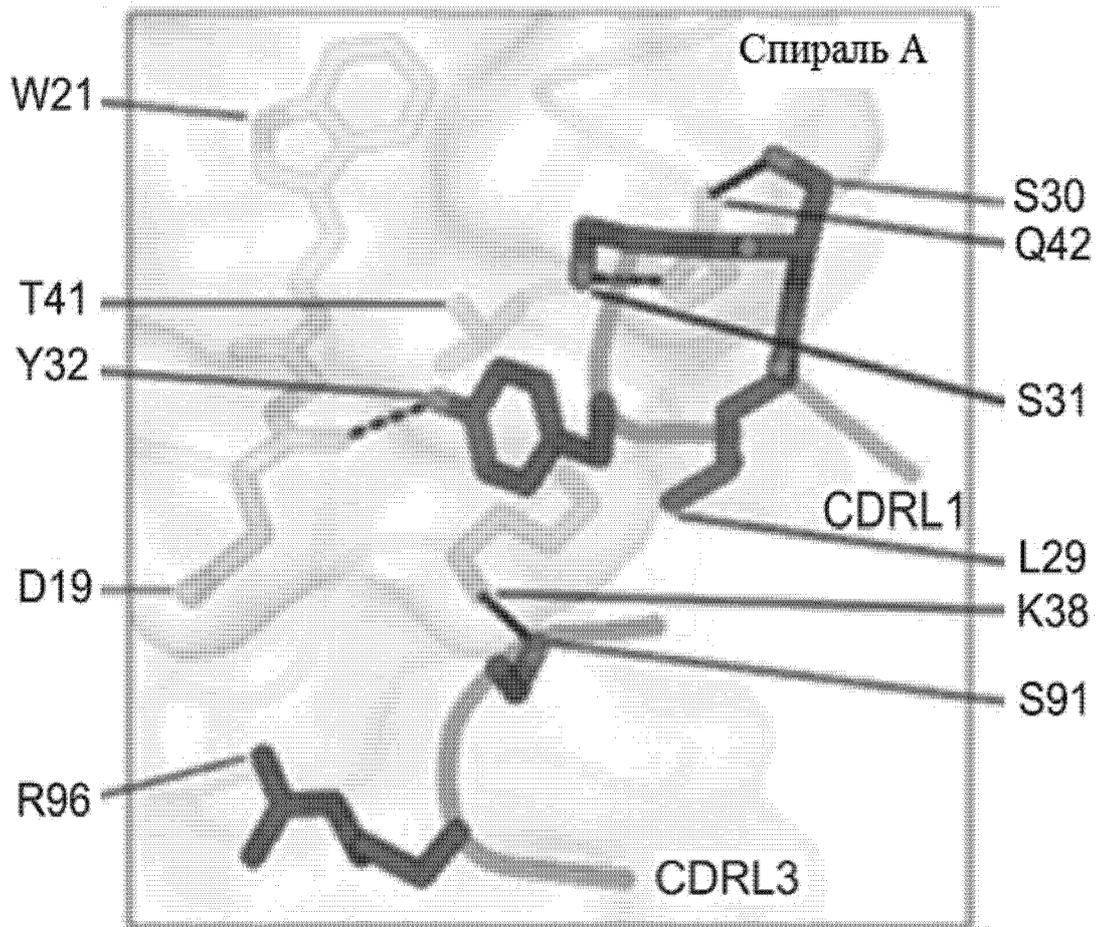
ФИГУРА 9А



ФИГУРА 9В



ФИГУРА 9С



ФИГУРА 9D

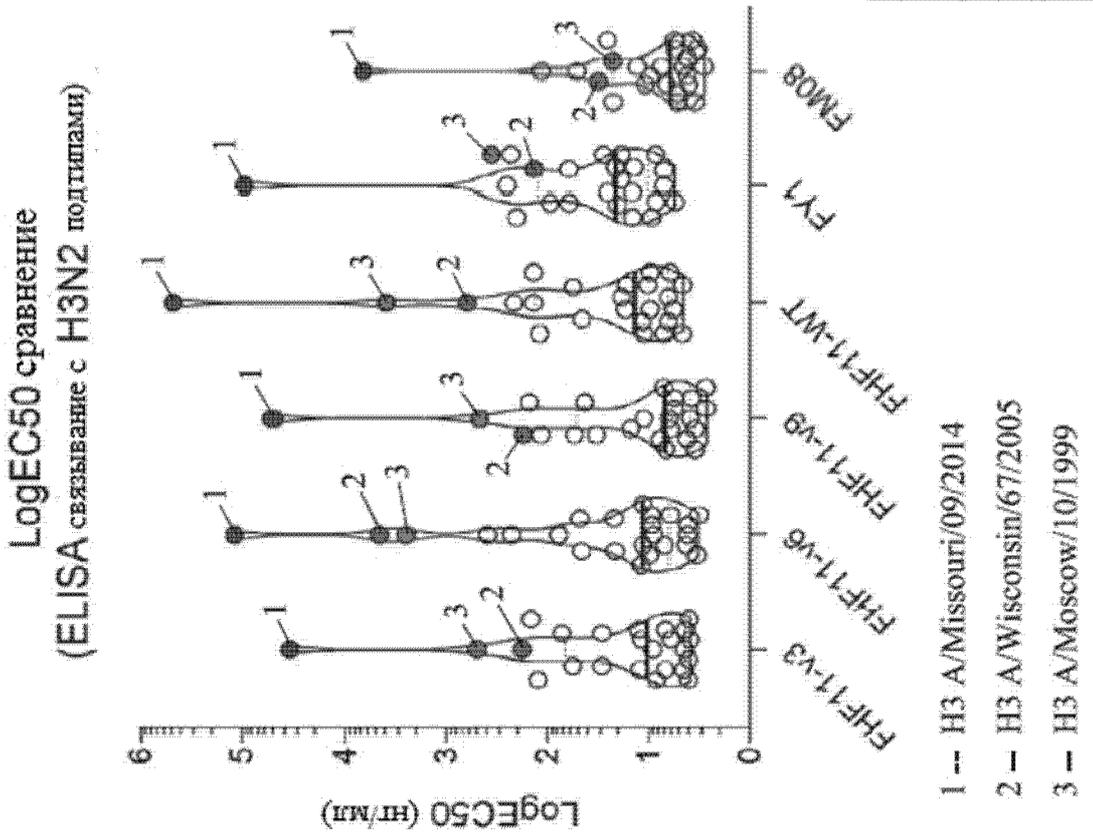
## FACS СВЯЗЫВАНИЕ

% клеток, связывающих ИХЛ с НА	ТНП117																	ТМ08	2 голыко
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15				
H1-SC	83	82	82	78	81	82	76	82	80	76	81	78	65	77	78	79	7.5		
H1-CAL	88	87	84	84	85	85	83	85	85	84	86	79	69	77	78	85	7.4		
H4	54	18	30	48	15	26	49	15	37	19	33	14	42	11	13	68	11		
H8	80	61	67	78	61	73	77	34	67	41	67	12	73	9.8	12	76	7.9		
H10	82	77	78	77	73	77	82	75	80	75	77	37	69	57	61	78	8.7		
H11	62	17	54	59	16	57	59	17	55	20	57	13	67	10	13	59	8.1		
H12	86	19	15	85	18	16	87	18	16	86	19	15	70	12	15	84	9.7		
H13	79	25	60	79	25	67	69	23	64	75	24	69	17	63	14	20	77	12	
H14	79	26	39	70	24	39	70	25	48	70	25	49	17	66	16	20	85	12	
H15	76	23	51	66	21	48	75	22	87	63	74	64	15	46	14	16	76	12	
H16	20	14	11	22	12	11	11	12	8.9	13	14	12	9.5	15	8.5	8.5	79	6.9	
H17	82	73	81	82	73	79	82	58	75	82	63	80	7.7	15	6.1	11	82	4.1	
H18	80	78	82	79	79	81	79	74	78	78	75	80	29	49	41	50	79	5.5	
Иммунная	7.1	9	6.2	5.7	7.7	5.9	5	7.4	5	7.5	37	5.8	6.2	7.1	4.2	5.3	4.7	3.5	

ФИГУРА 10А

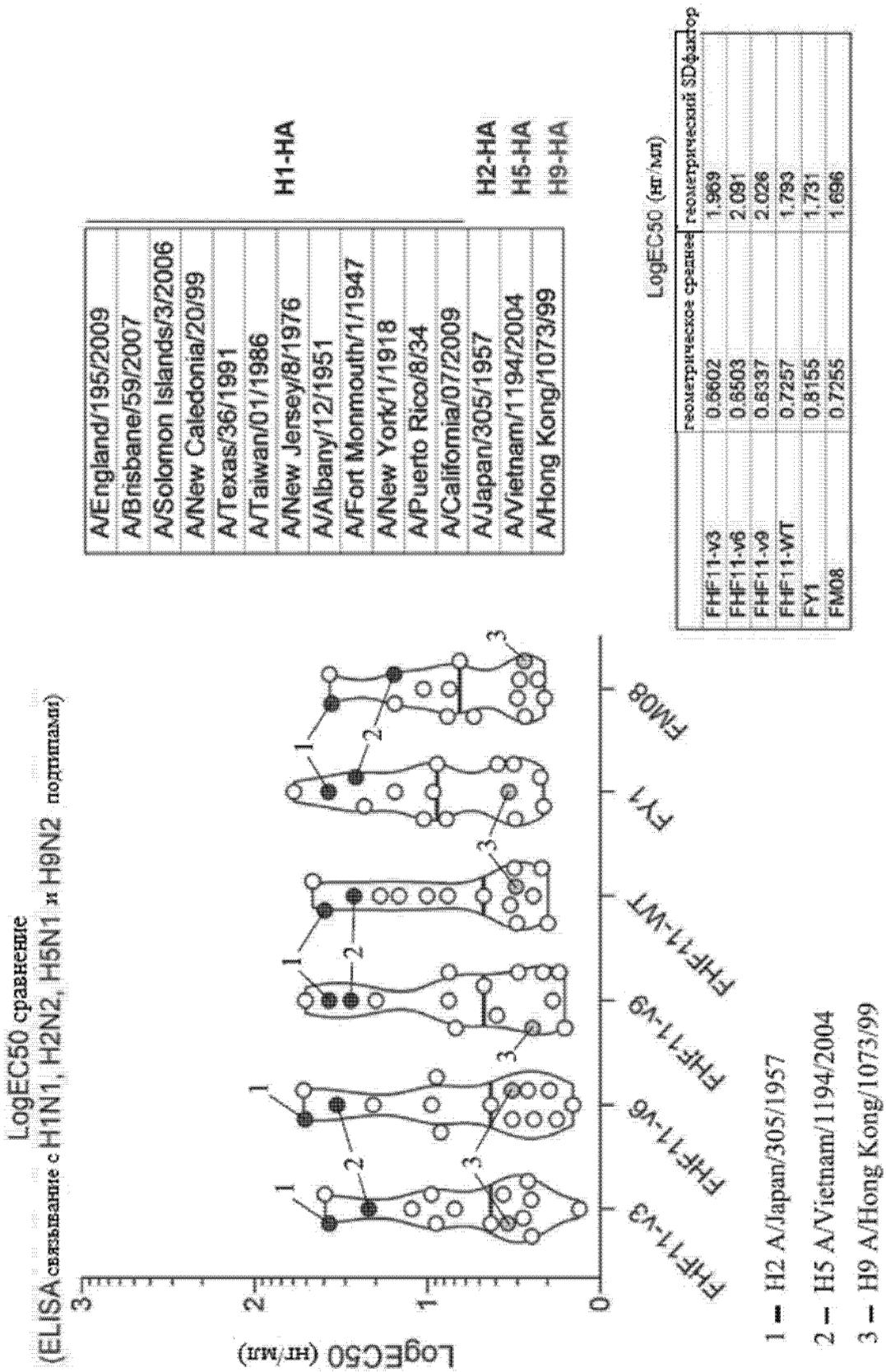
	FHF11_VK (WT)	FHF11_VK Δ R31	FHF11_VK Δ92-96	FHF11_VK Δ R31/ Δ92-96
FHF11_VH (WT)	WT	v1	v2	v12
FHF11_VH H32Y	v3	v4	v5	v13
FHF11_VH K58G	v6	v7	v8	v14
FHF11_VH H32Y/K58G	v9	v10	v11	v15

ФИГУРА 10В



A/Babol/36/2005
A/Hong Kong/CUHK31987/2011
A/Texas/50/2012
A/Wisconsin/67/2005
A/Netherlands/178/1995
A/Johannesburg/33/1994
A/Guangdong-Luohu/1256/2009
A/California/7/2004
A/Hanoi/EL134/2008
A/Wuhan/359/1995
A/Victoria/208/2009
A/Philippines/472/2002
A/Hanoi/EL201/2009
A/Victoria/210/2009
A/Missouri/09/2014
A/Perth/16/2009
A/Wyoming/03/2003
A/Moscow/10/1999
A/Sydney/5/1997
A/Nanchang/933/1995
A/Beijing/32/92
A/Aichi/2/1968
A/Brisbane/10/2007
A/Switzerland/9715293/2013

ФИГУРА 11

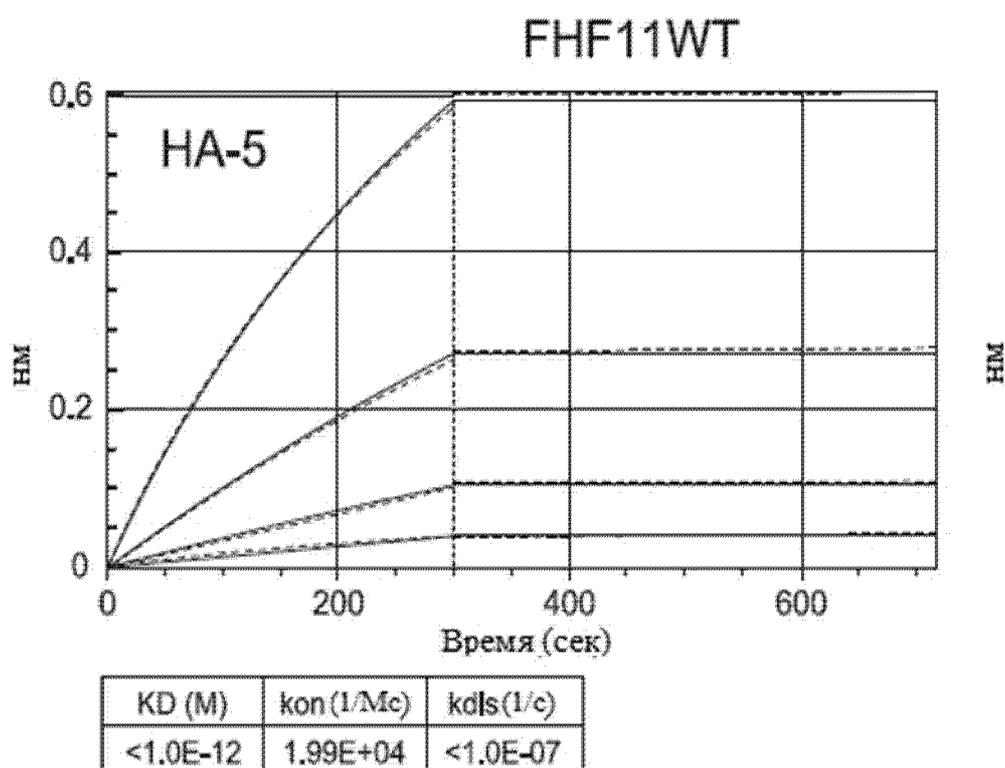
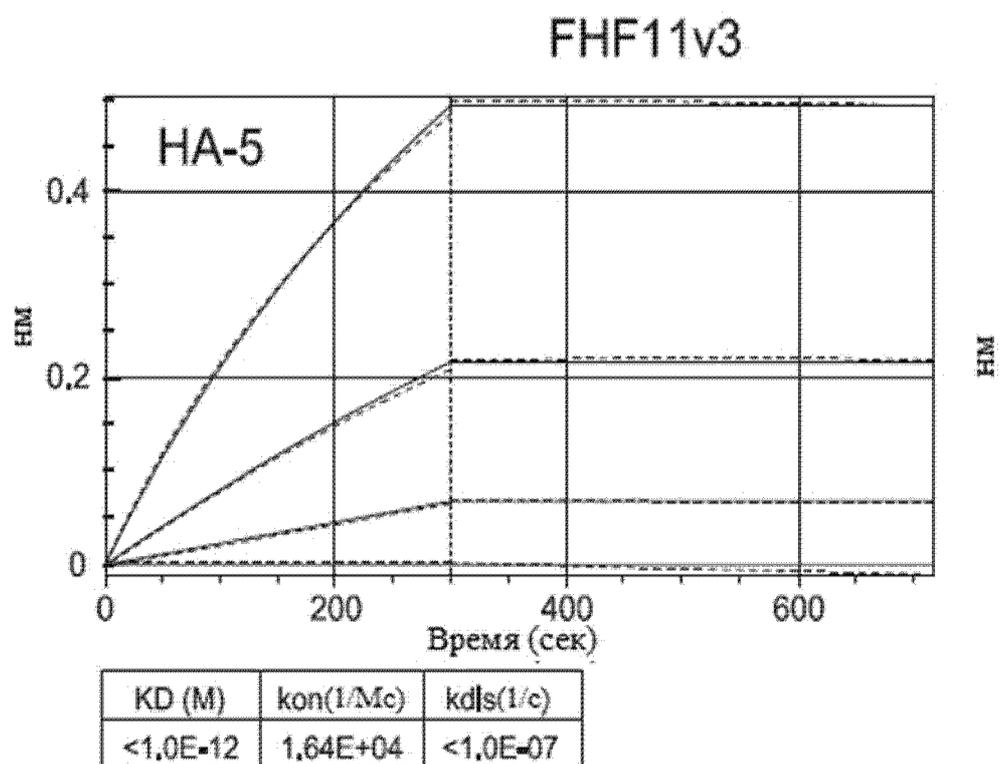


A/England/195/2009
A/Brisbane/59/2007
A/Solomon Islands/3/2006
A/New Caledonia/20/99
A/Texas/36/1991
A/Taiwan/01/1986
A/New Jersey/8/1976
A/Albany/12/1951
A/Fort Monmouth/1/1947
A/New York/1/1918
A/Puerto Rico/8/34
A/California/07/2009
A/Japan/305/1957
A/Vietnam/1194/2004
A/Hong Kong/1073/99

H1-H1A

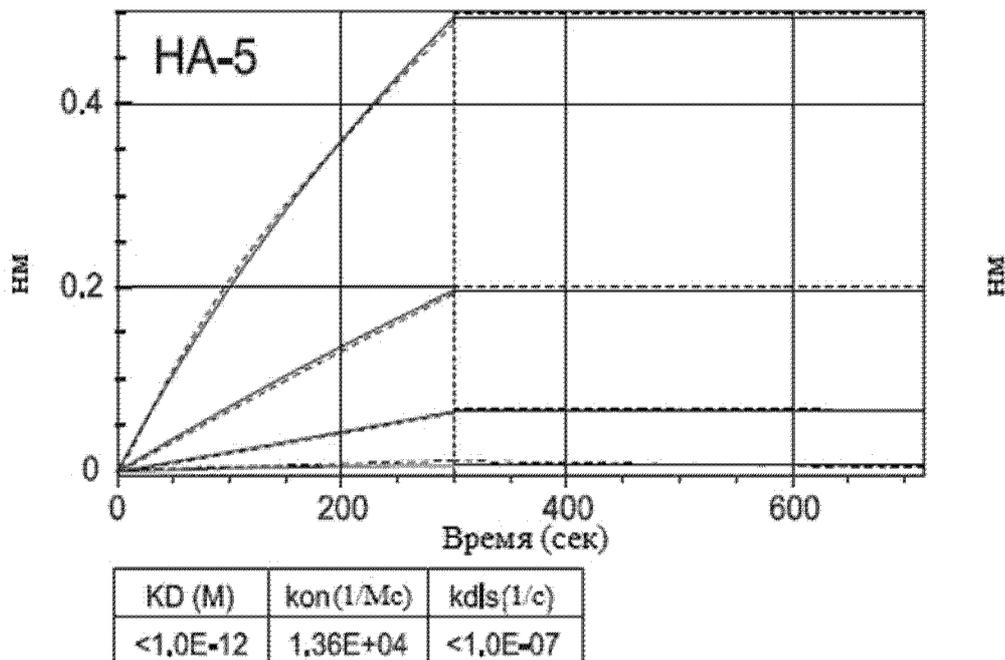
H2-H1A  
H5-H1A  
H9-H1A

ФИГУРА 12

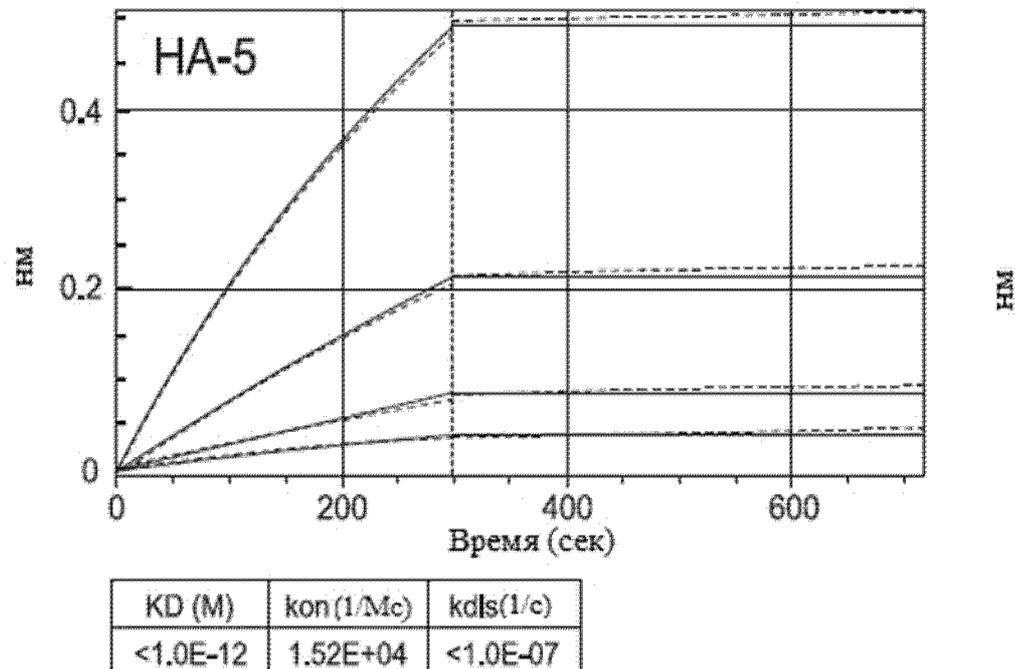


ФИГУРА 13

### FHF11v6

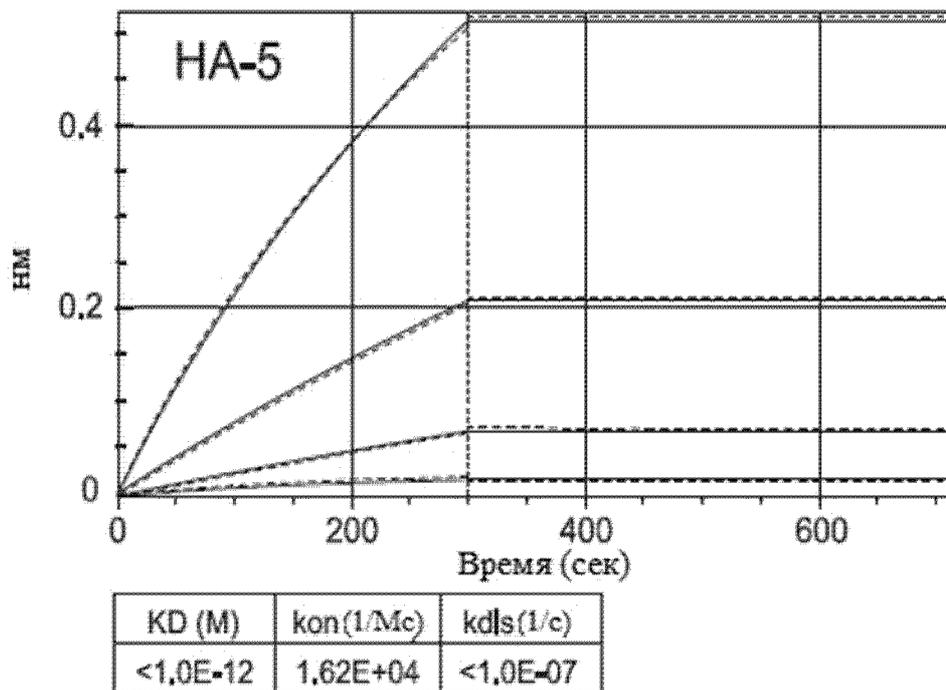


### FY1

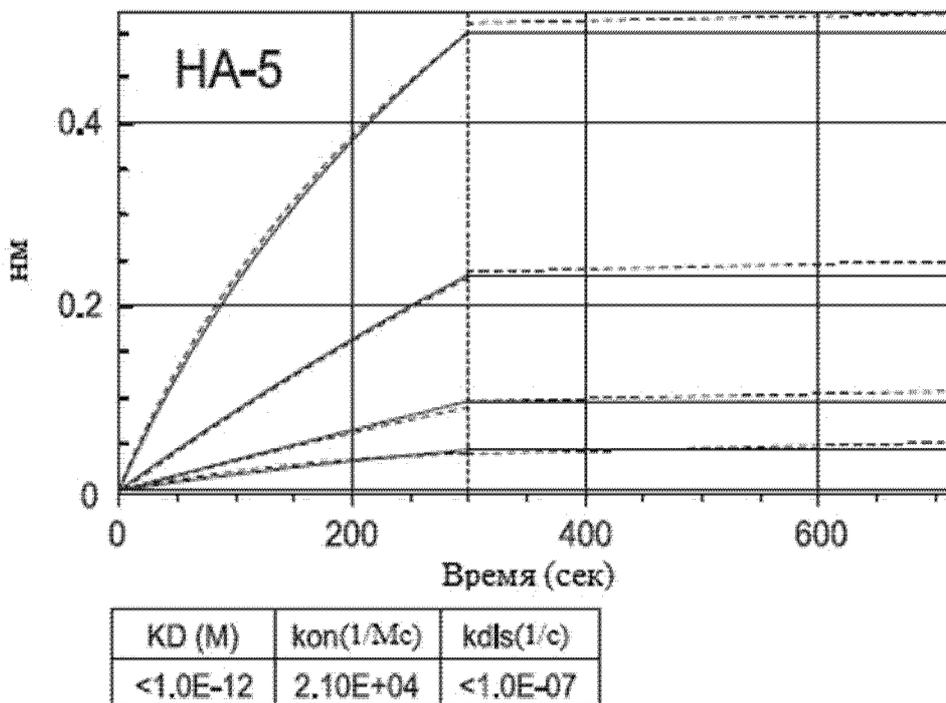


ФИГУРА 13 (продолжение)

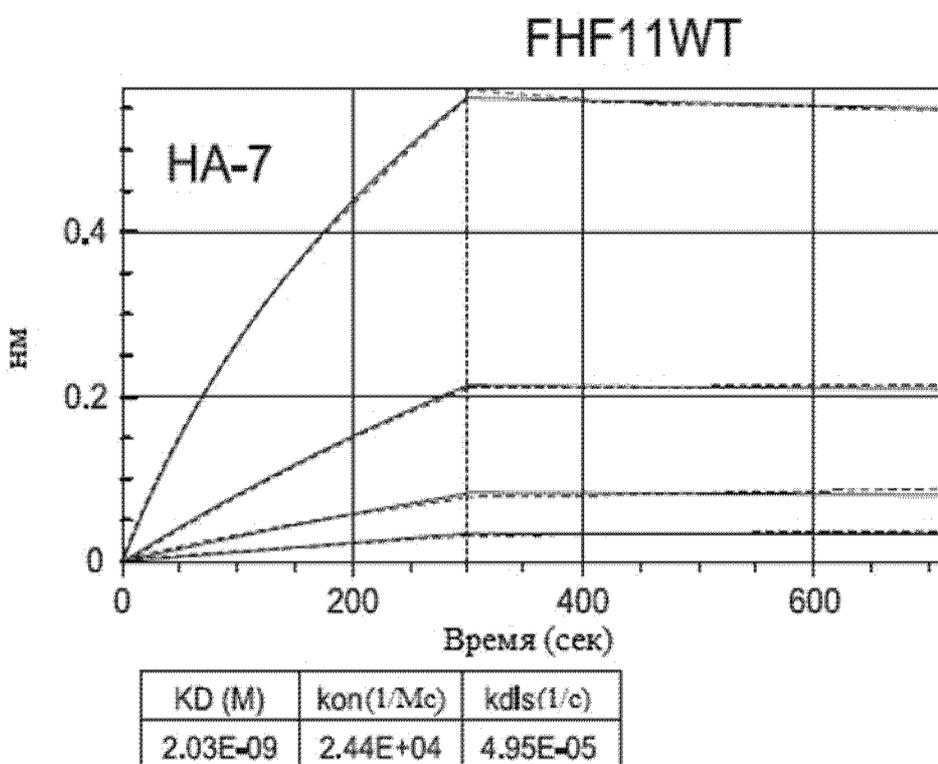
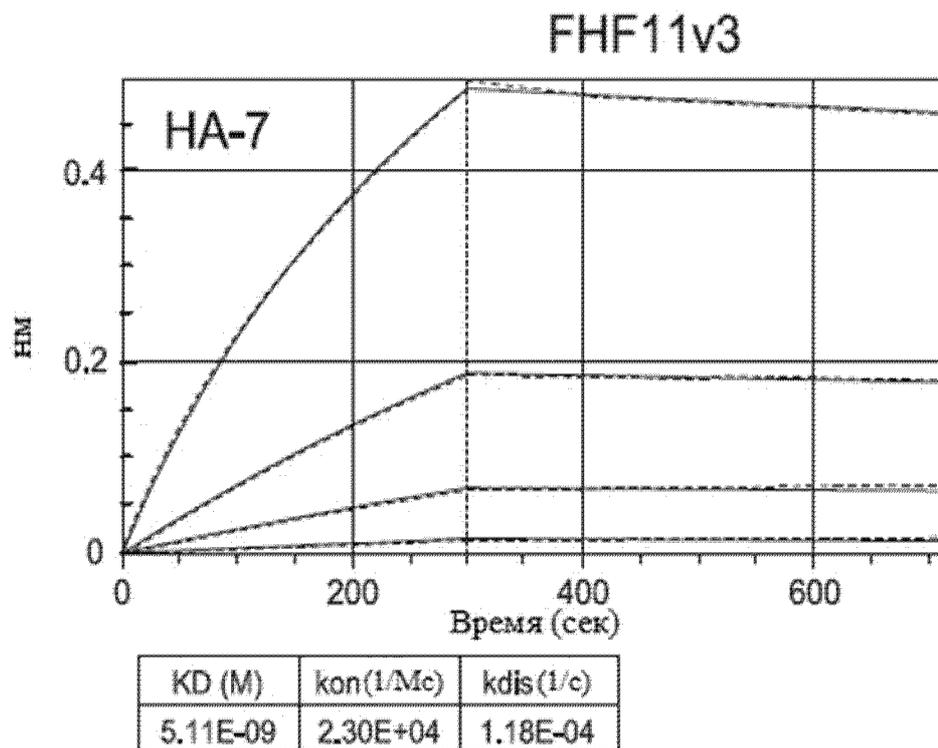
### FHF11v9



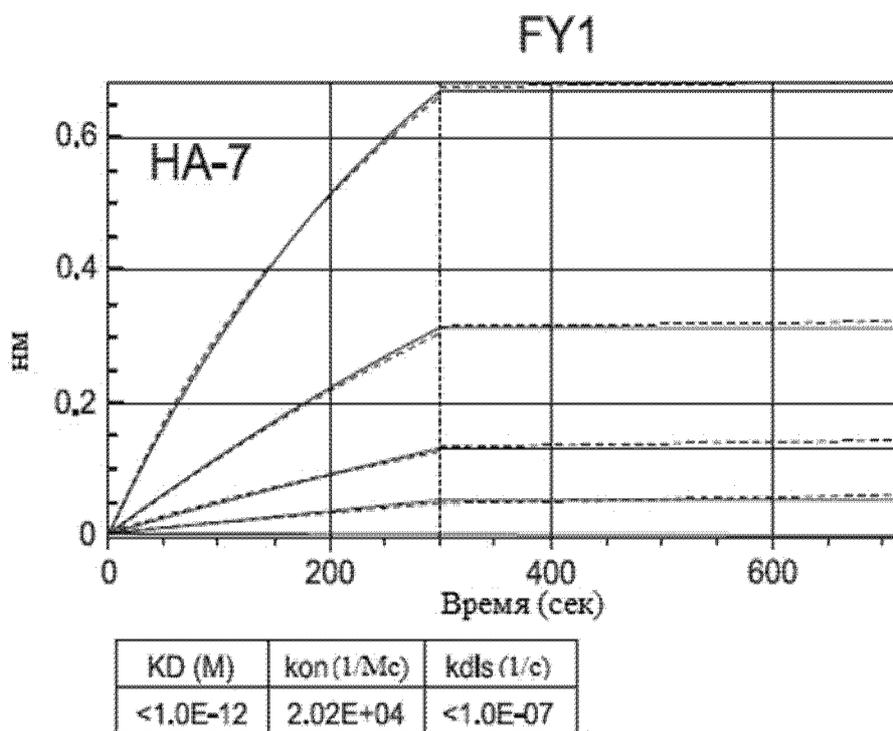
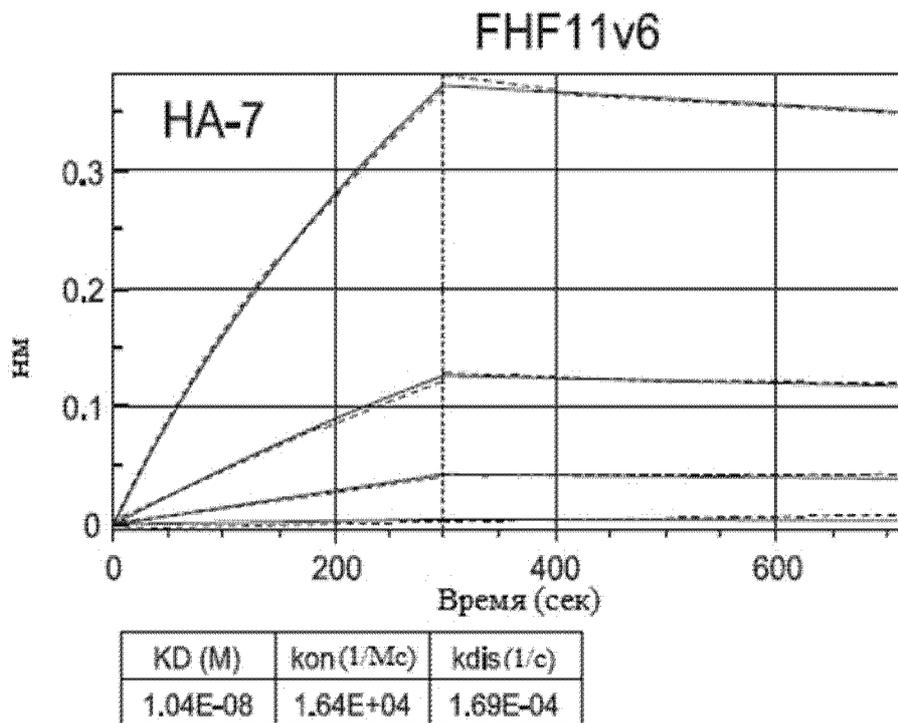
### FM08



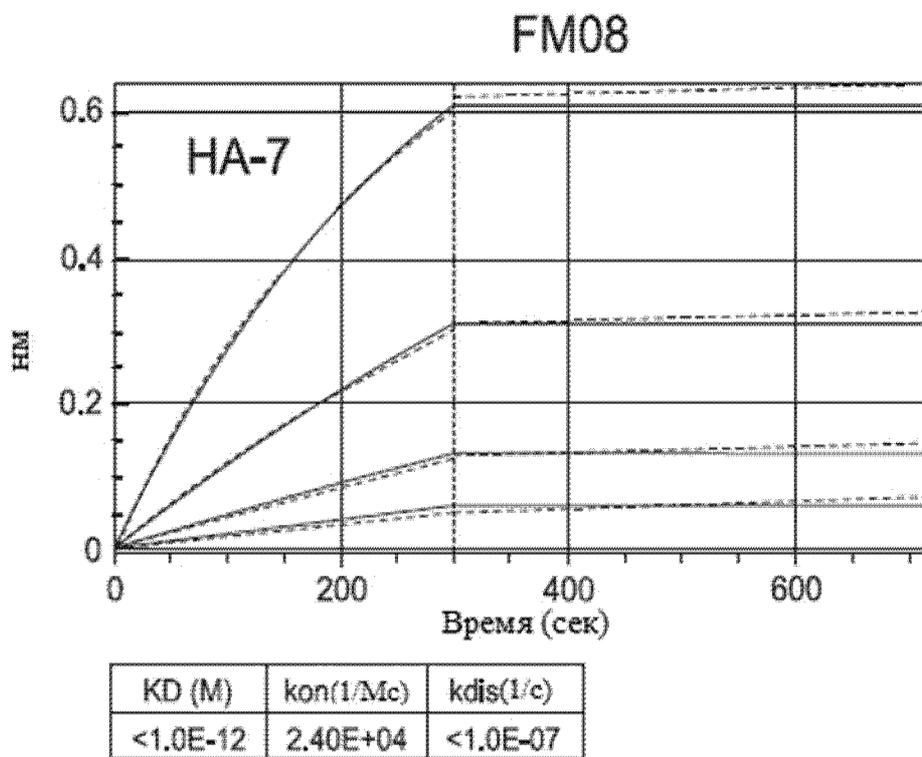
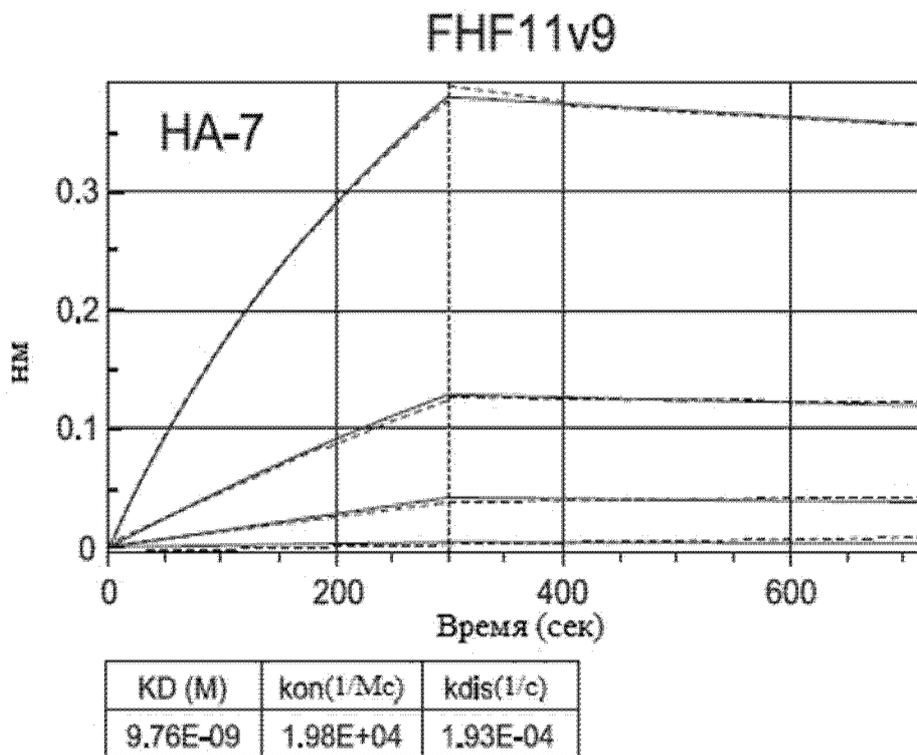
ФИГУРА 13 (продолжение)



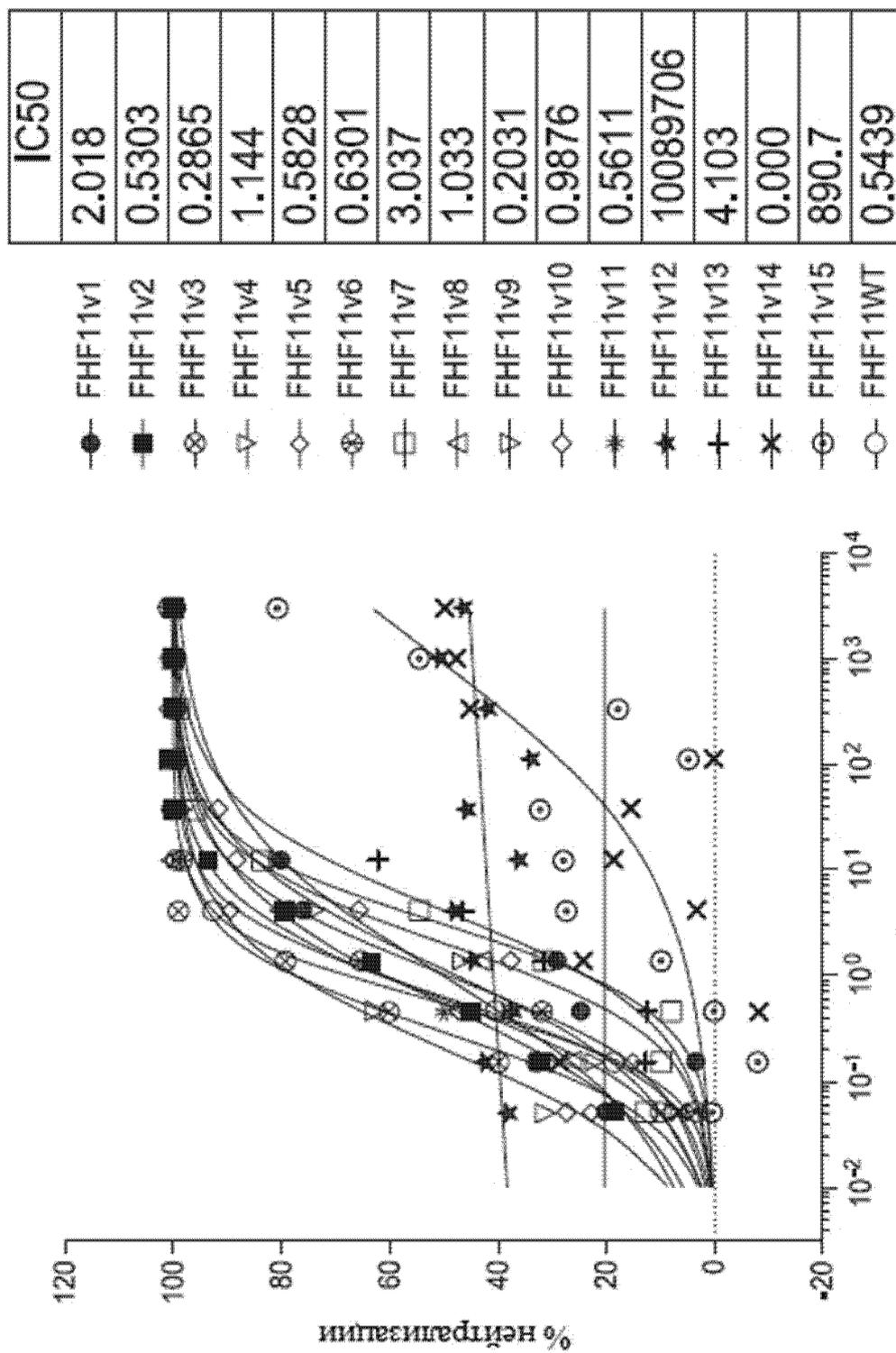
ФИГУРА 14



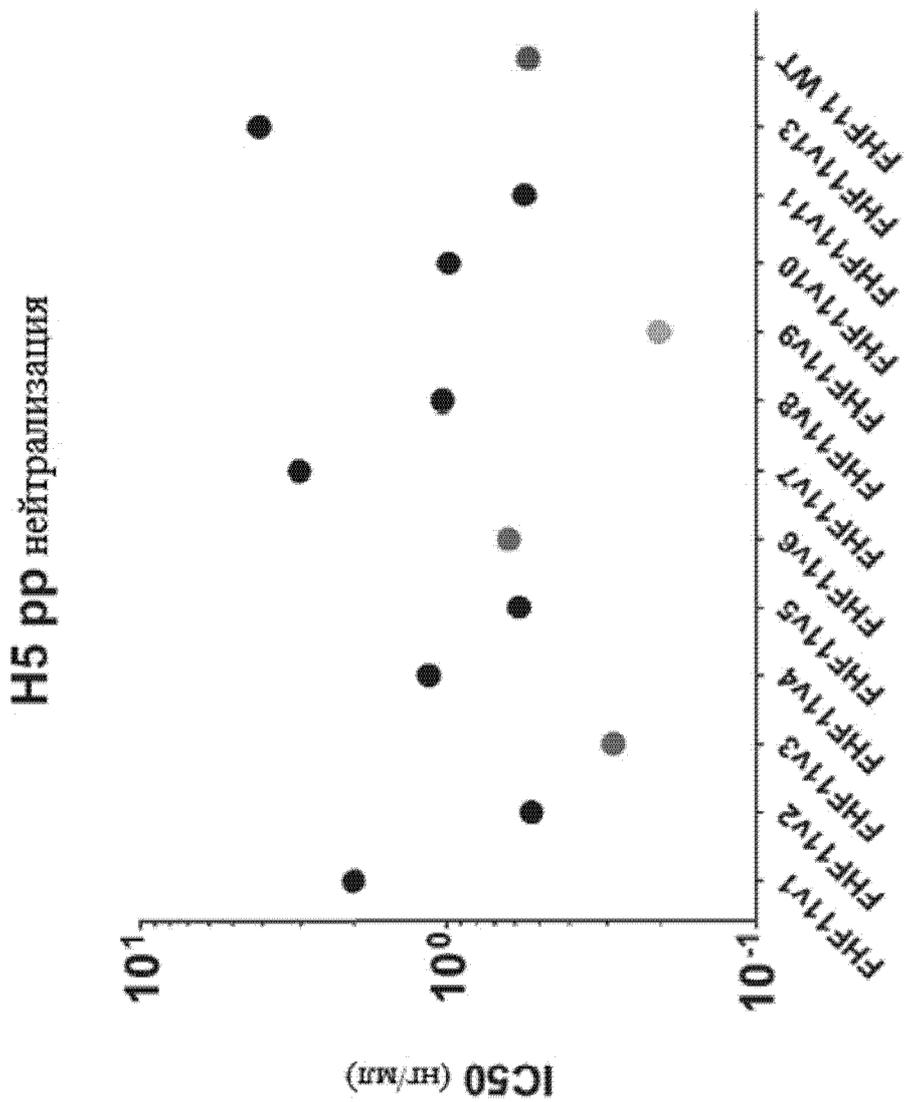
ФИГУРА 14 (продолжение)



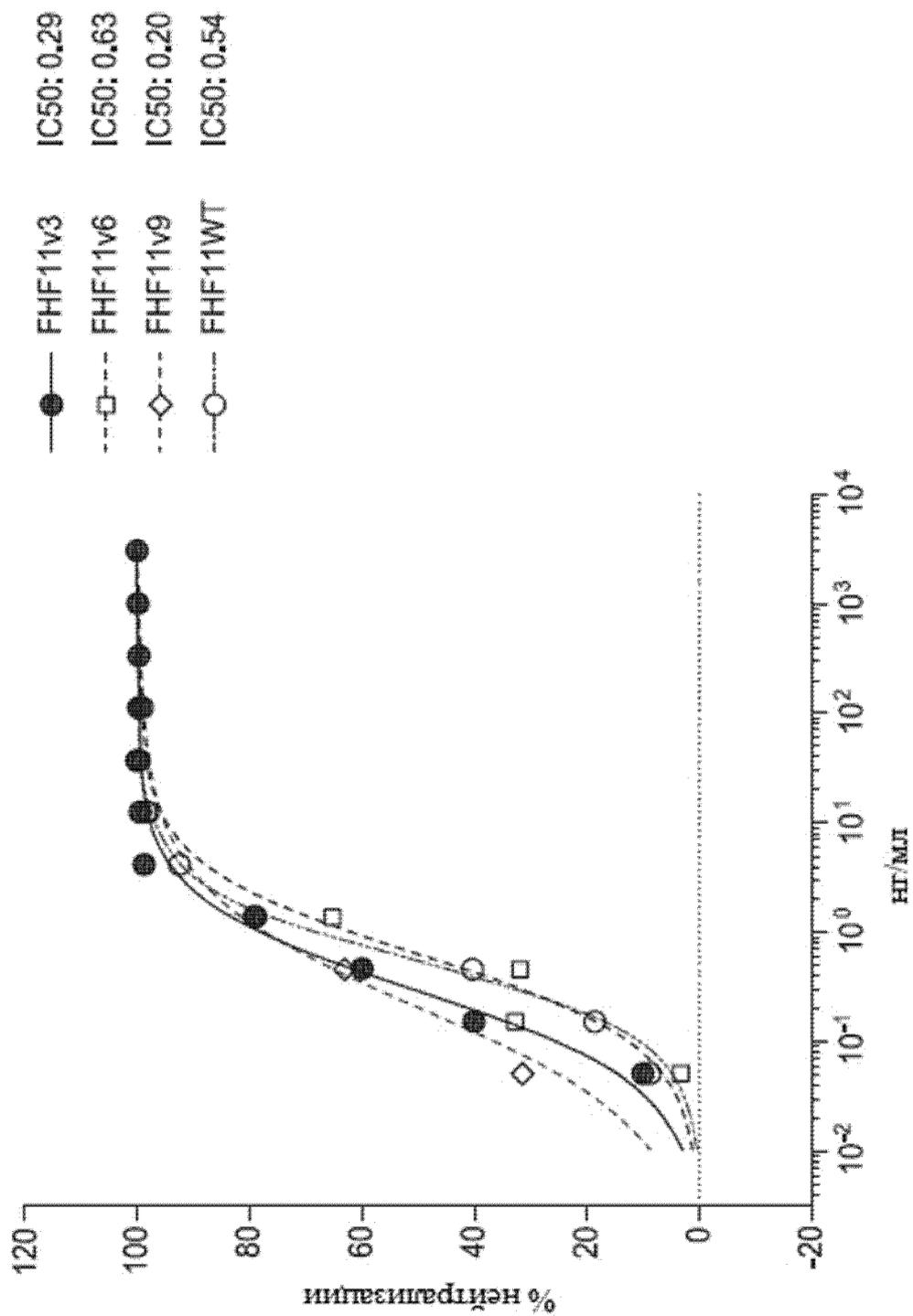
ФИГУРА 14 (продолжение)



ФИГУРА 15А

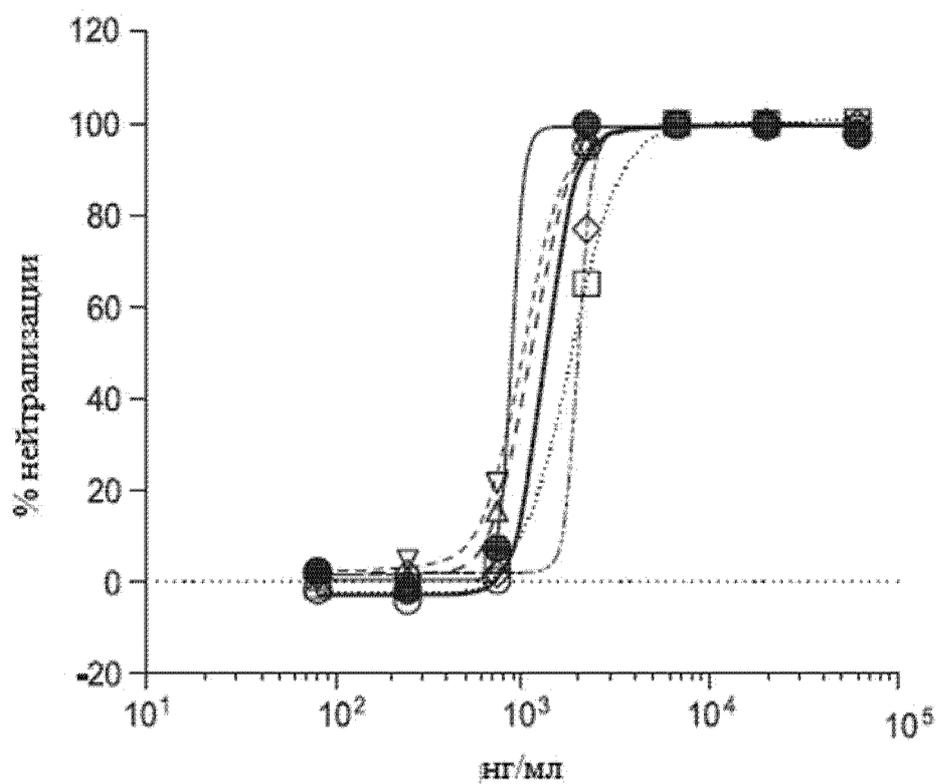


ФИГУРА 15В



ФИГУРА 15С

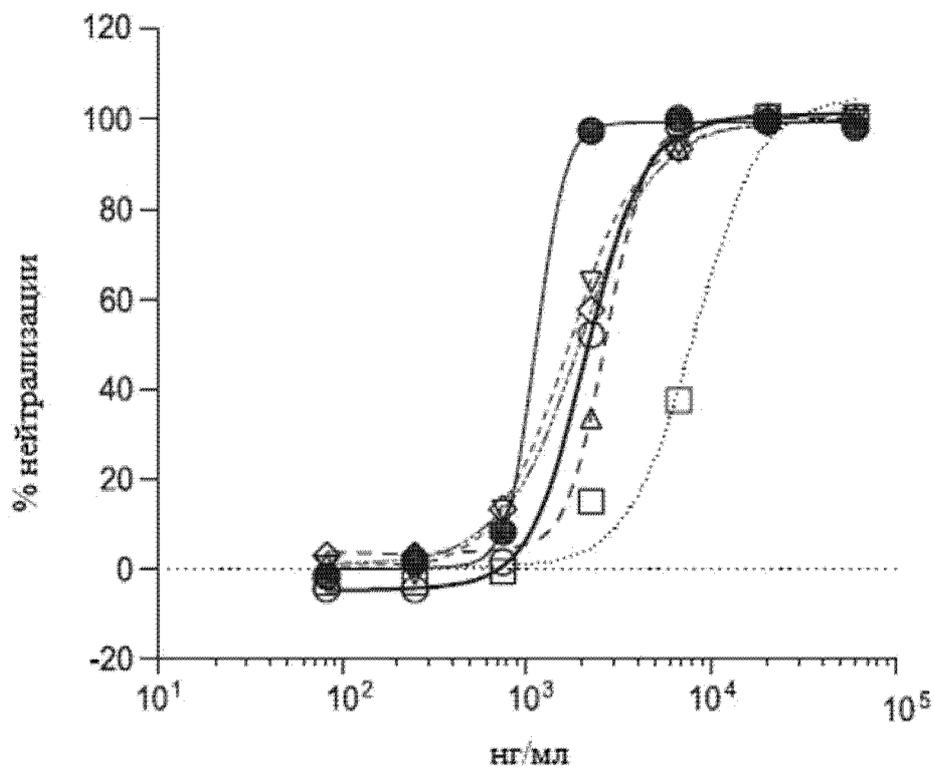
## H1N1 APR/8/34



	IC50	IC90
● FHF11v3	~888.8	1045.252
△ FHF11v6	1111	1856.639
▽ FHF11v9	1036	1781.664
◇ FHF11WT	~2005	2423.122
□ FY1	1858	3498.356
○ FM08	1346	1985.559

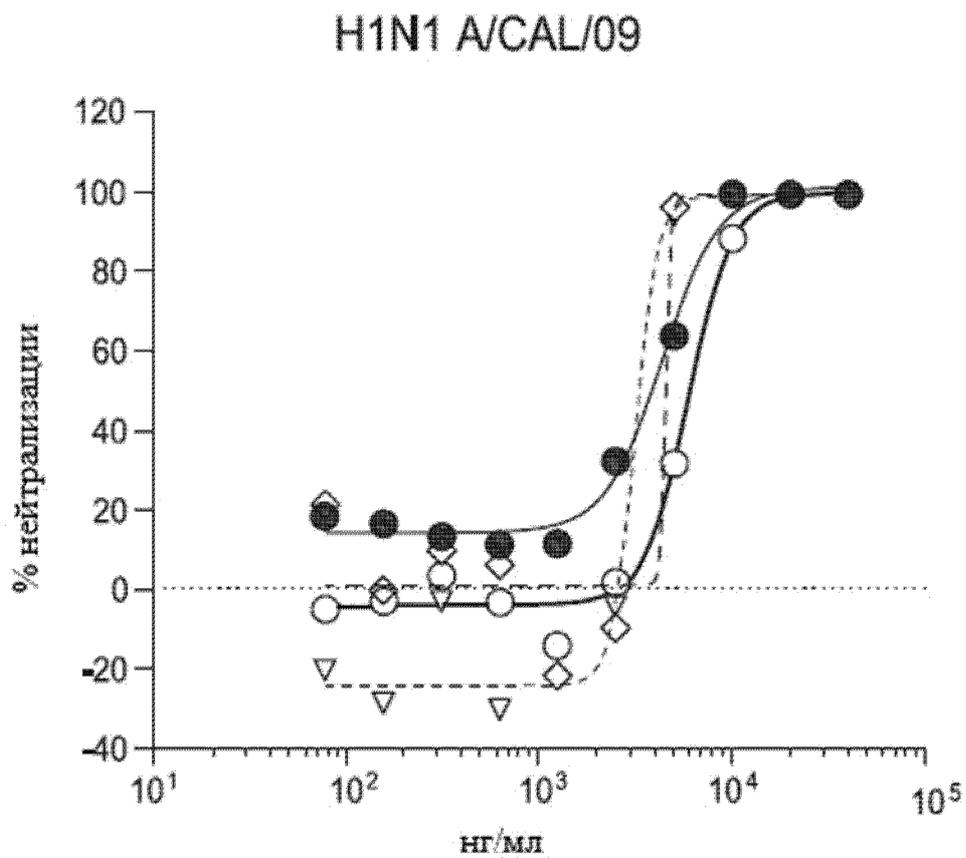
ФИГУРА 16А

## H1N1 A/Solomon Islands/3/06



	IC50	IC90
● FHF11v3	1123	1684.680
△ FHF11v6	2702	4542.275
▽ FHF11v9	1682	4761.589
◇ FHF11WT	1951	5409.263
□ FY1	8005	16632.854
○ FM08	2102	4460.510

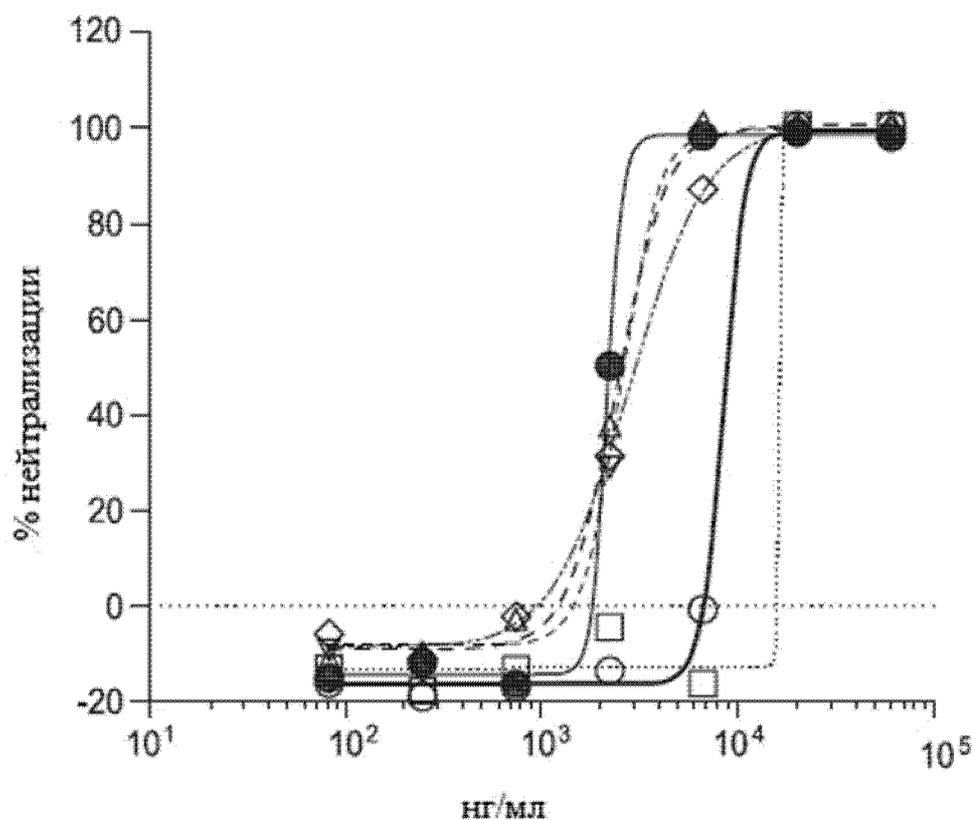
ФИГУРА 16В



	IC50
—●— FHF11v3	4348
- -◇- - FHF11v6	~4509
- -▽- - FHF11v9	3115
—○— FM08	5884

ФИГУРА 16С

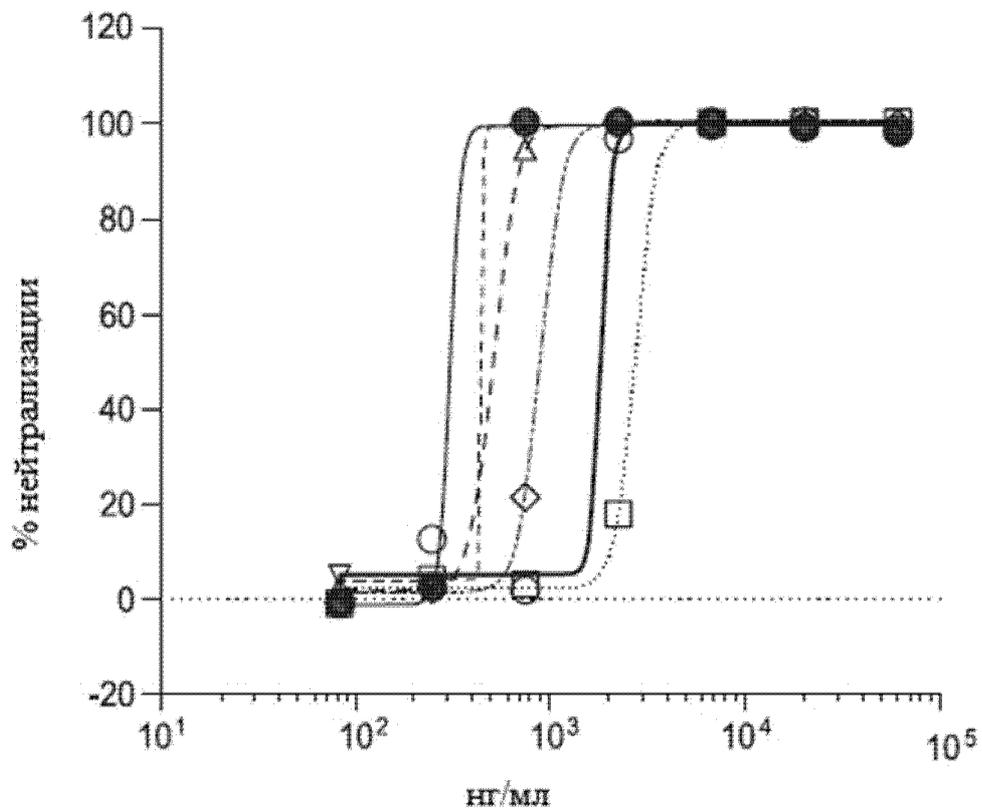
## H3N2 A/Aichi/2/68



	IC50	IC90
● FHF11v3	~2166	2714.934
△ FHF11v6	2423	4569.881
▽ FHF11v9	2543	4257.186
◇ FHF11WT	2824	7637.738
□ FY1	~16235	16771.707
○ FM08	8453	11445.180

ФИГУРА 16D

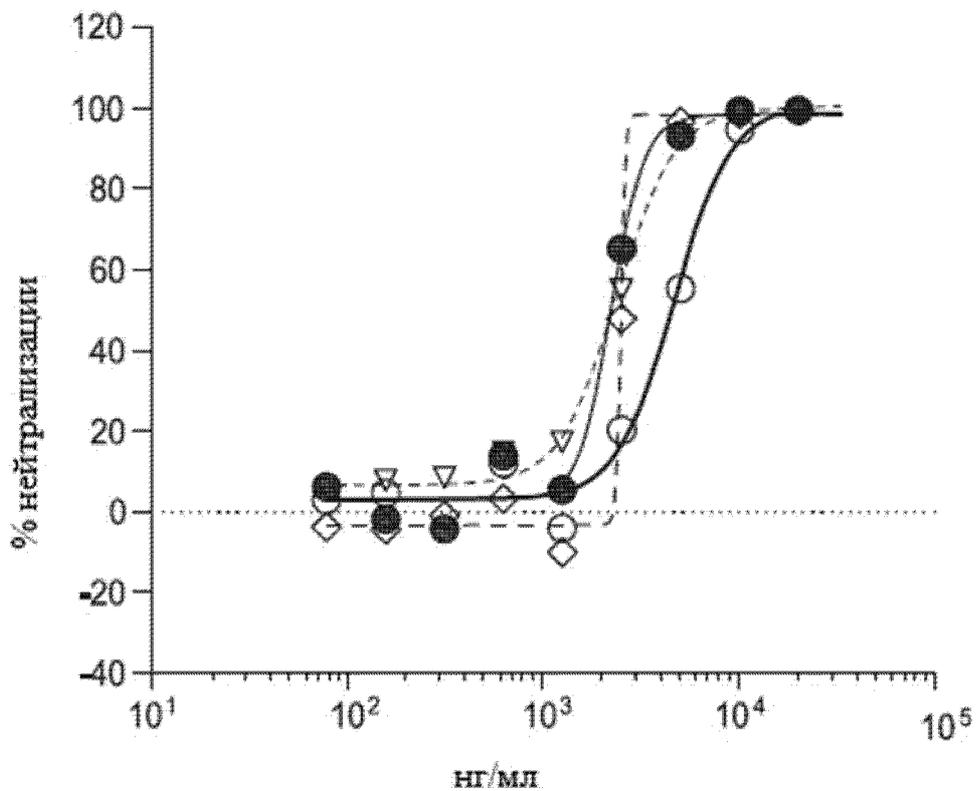
## H3N2 A/Brisbane/10/07



	IC50	IC90
● FHF11v3	~304.4	351.246
△ FHF11v6	506.2	684.439
▽ FHF11v9	444.2	455.690
◇ FHF11WT	885.7	1177.409
□ FY1	2699	3488.869
○ FM08	~1827	2077.192

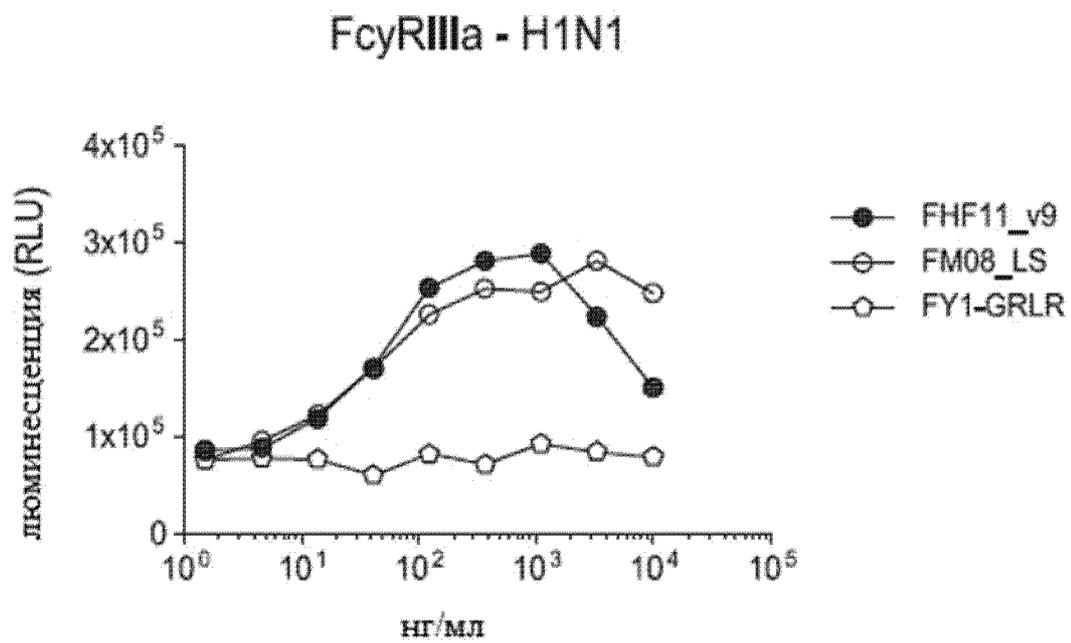
ФИГУРА 16Е

## H3N2 A/HK/68

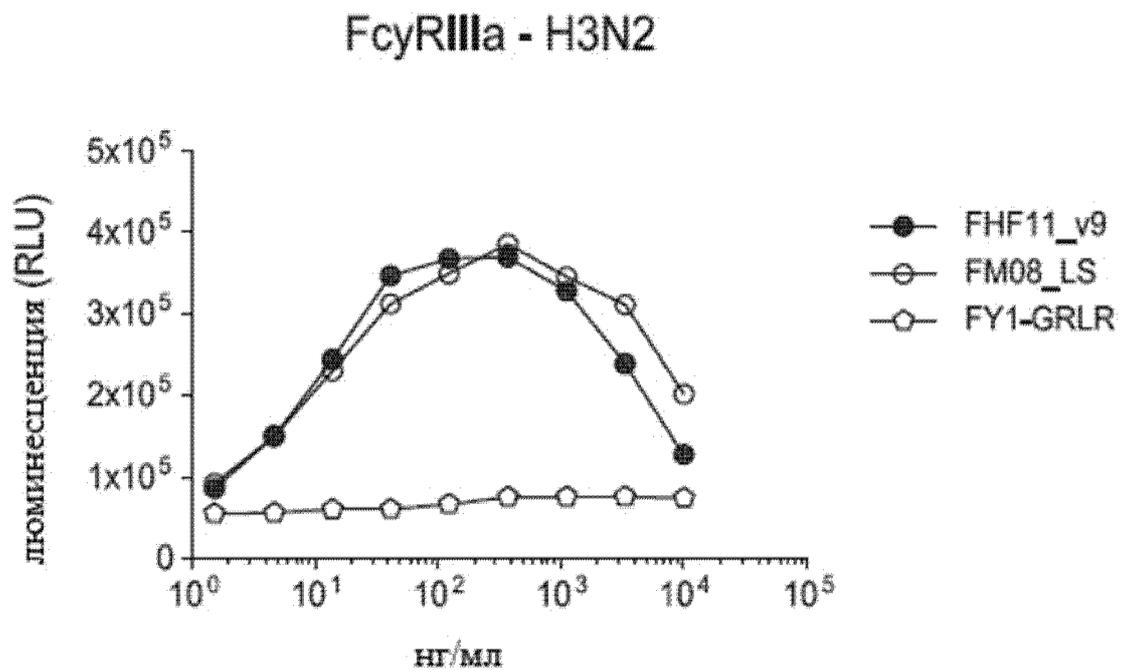


—●—	FHF11v3	IC50	2234
- -◇- -	FHF11v6		~2499
- -▽- -	FHF11v9		2383
—○—	FM08		4625

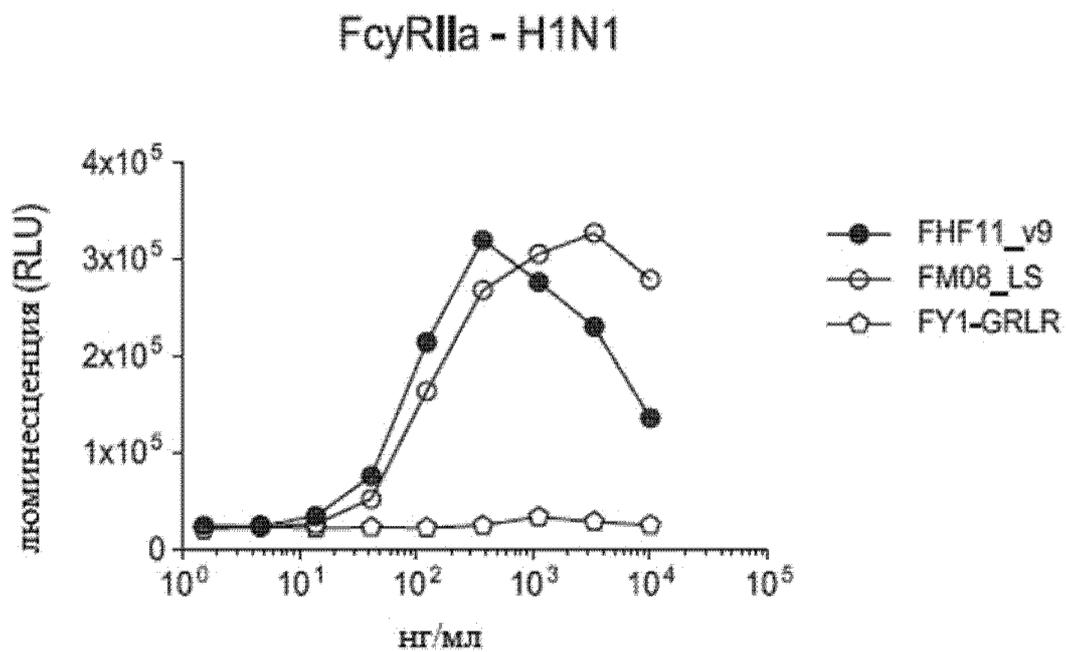
ФИГУРА 16F



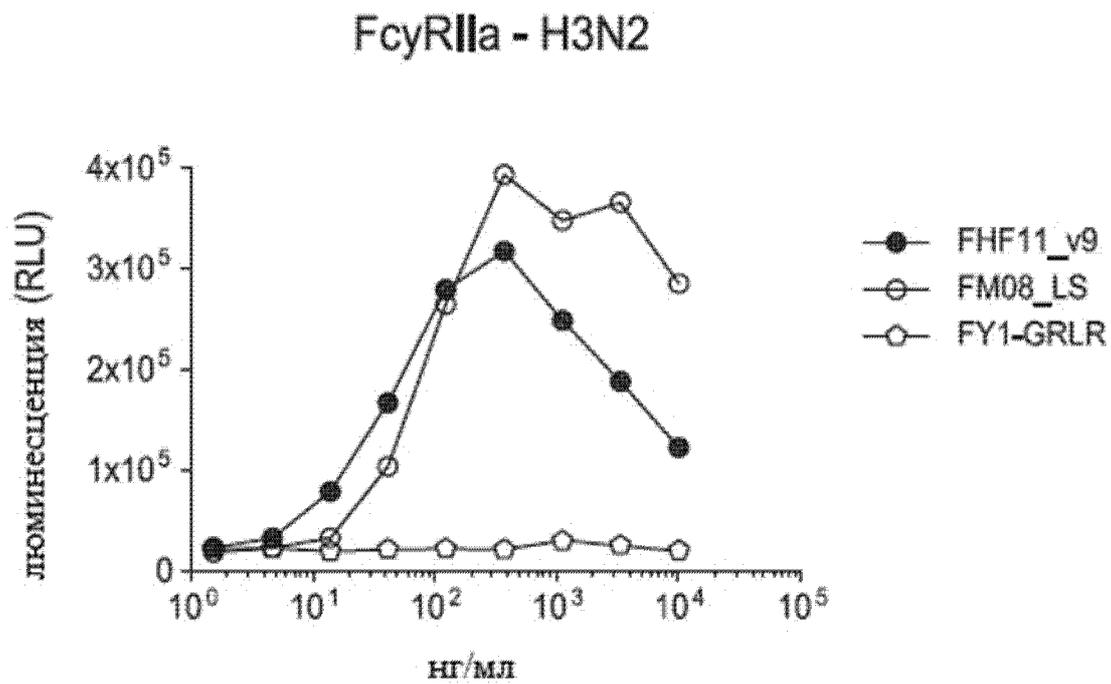
ФИГУРА 17А



ФИГУРА 17В



ФИГУРА 18А



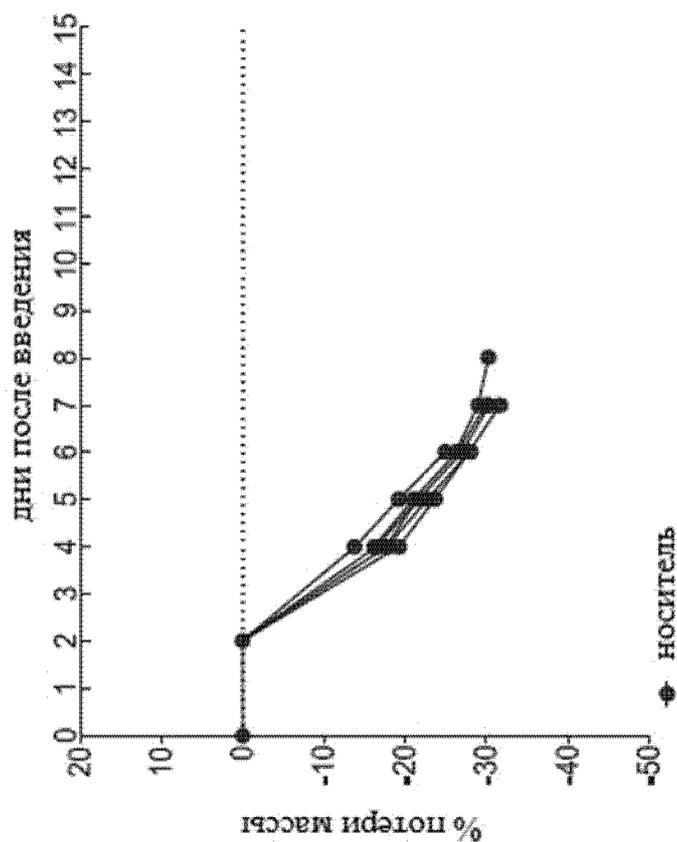
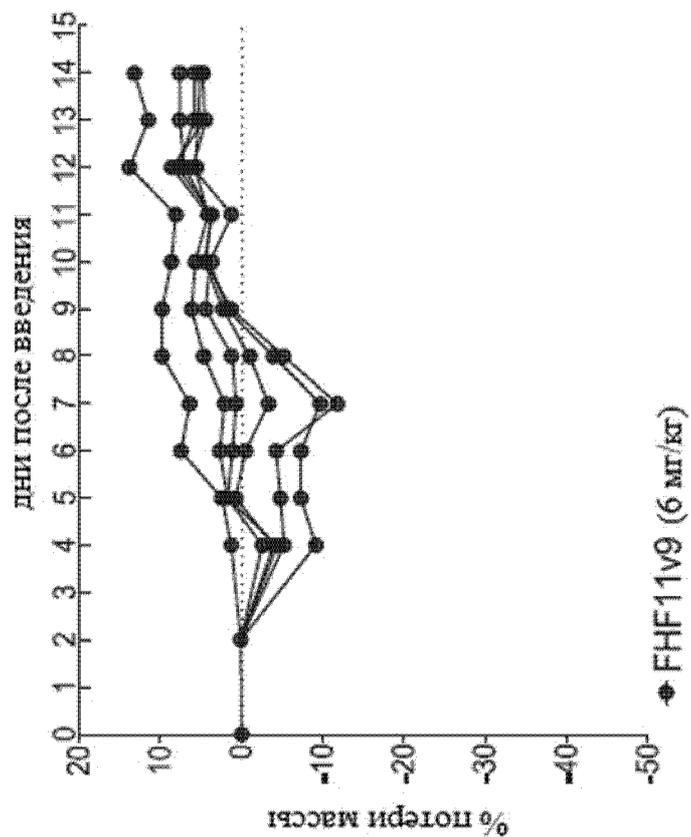
ФИГУРА 18В

ГРУППА Мышь_ID	Доза (мкг)	Req_d justified	No_points lambda_z	Lambda_z (1/день)	HL_Lambda_z (день)	AUClast (день*мкг/мл)	Cavg (мкг/мл)	CLss (мг/день)	Vz (мл)
<b>FHF11V9-LS</b>									
	125	0.22	4	0.07	9.48	1060.17	146.11	0.86	11.7
	130.5	0.76	4	0.11	6.58	1341.53	157.25	0.83	7.88
	156	0.23	4	0.05	13.46	1258.65	111.87	1.39	27.09
	121	0.74	4	0.09	8.07	1384.12	143.67	0.84	9.8
	126.5	0.7	5	0.06	10.74	1064	150.47	0.84	13.03
Среднее	131.8	0.531	4.2	0.076	9.668	1221.694	141.874	0.953	13.901
SD	13.949	0.281	0.447	0.021	2.631	152.536	17.551	0.247	7.625
<b>FM08_LS</b>									
	126.5	0.9	5	0.07	9.6	1160.63	140.48	0.9	12.47
	130	0.88	4	0.11	6.39	1483.98	143.53	0.91	8.35
	145	0.88	5	0.15	4.74	1156.89	174.59	0.83	5.68
	120	0.82	4	0.1	6.97	1556.84	172.02	0.7	7.01
	138	0.87	4	0.09	7.42	1752.64	180.64	0.76	8.18
Среднее	131.9	0.868	4.4	0.104	7.024	1422.195	162.252	0.82	8.339
SD	9.788	0.028	0.548	0.027	1.762	259.784	18.778	0.09	2.546

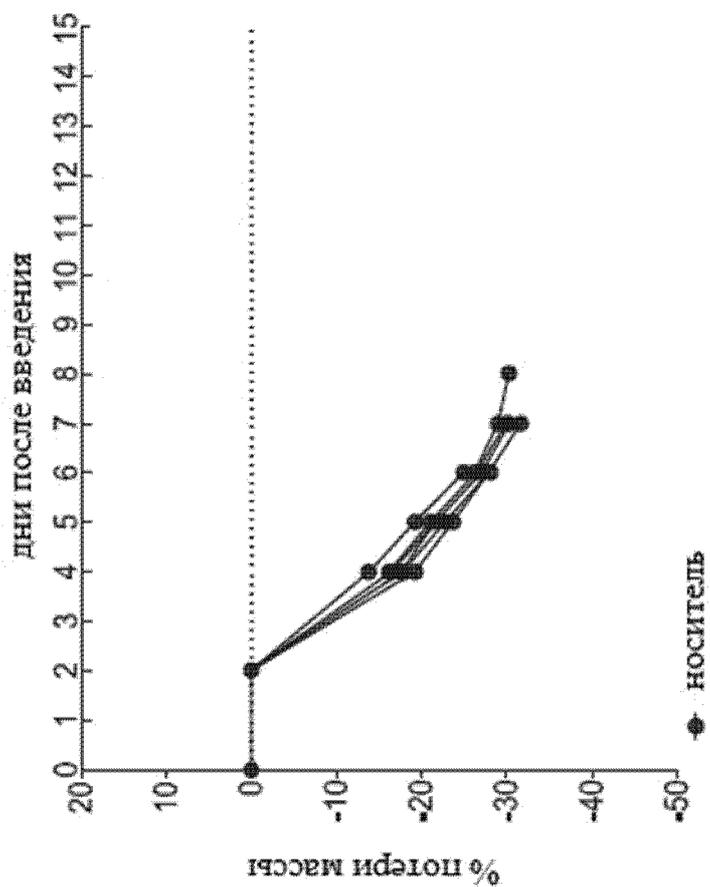
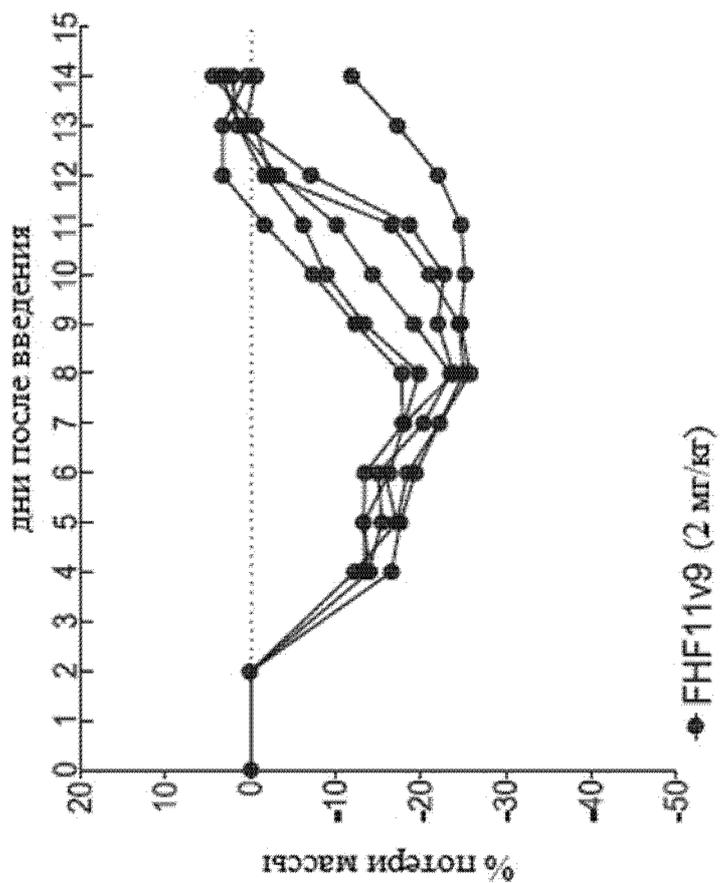
ФИГУРА 19

ГРУППА	Доза (мкг)	Rsq	Апроксимиро ванные точки (1/день)	Lambda <sub>z</sub> (1/день)	полувыве дение (день)	AUCast (день*мкг/мл)	Vz (мл)	Clss (мл/день)
FHF12-LS	53	0.99	5	0.07	9.44	278.78	19.04	1.4
	57.5	0.95	5	0.07	10.34	247.69	27.57	1.85
	54	0.97	5	0.06	11.69	282.63	20.7	1.23
	53.5	0.88	5	0.07	10.38	331.17	18.17	1.21
	53.5	0.99	5	0.05	12.99	225.07	38.87	2.07
Среднее	54.3	0.957	5	0.064	10.968	273.069	24.871	1.552
SD	1.823	0.043	0	0.008	1.386	40.15	8.652	0.388
FM08_LS	53.5	0.87	4	0.07	10.29	204.54	17.44	1.17
	52.8	0.93	5	0.08	8.58	275.51	12.72	1.03
	54.5	0.87	5	0.09	8	275.84	12.57	1.09
	51.3	0.97	5	0.12	6	173.86	12.02	1.39
	51.3	0.91	5	0.09	7.49	204.07	17.16	1.59
Среднее	52.68	0.91	4.8	0.089	8.072	226.764	14.381	1.253
SD	1.397	0.043	0.447	0.018	1.567	46.348	2.677	0.231

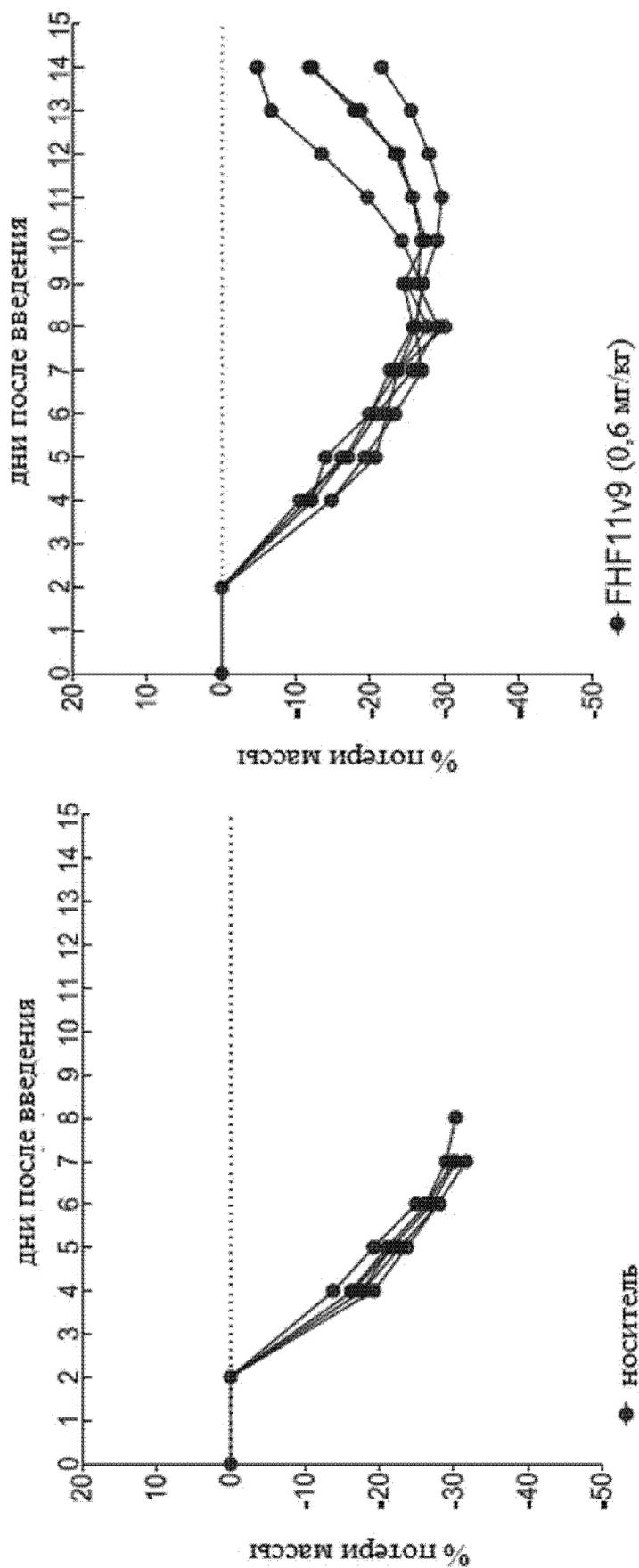
ФИГУРА 19 (продолжение)



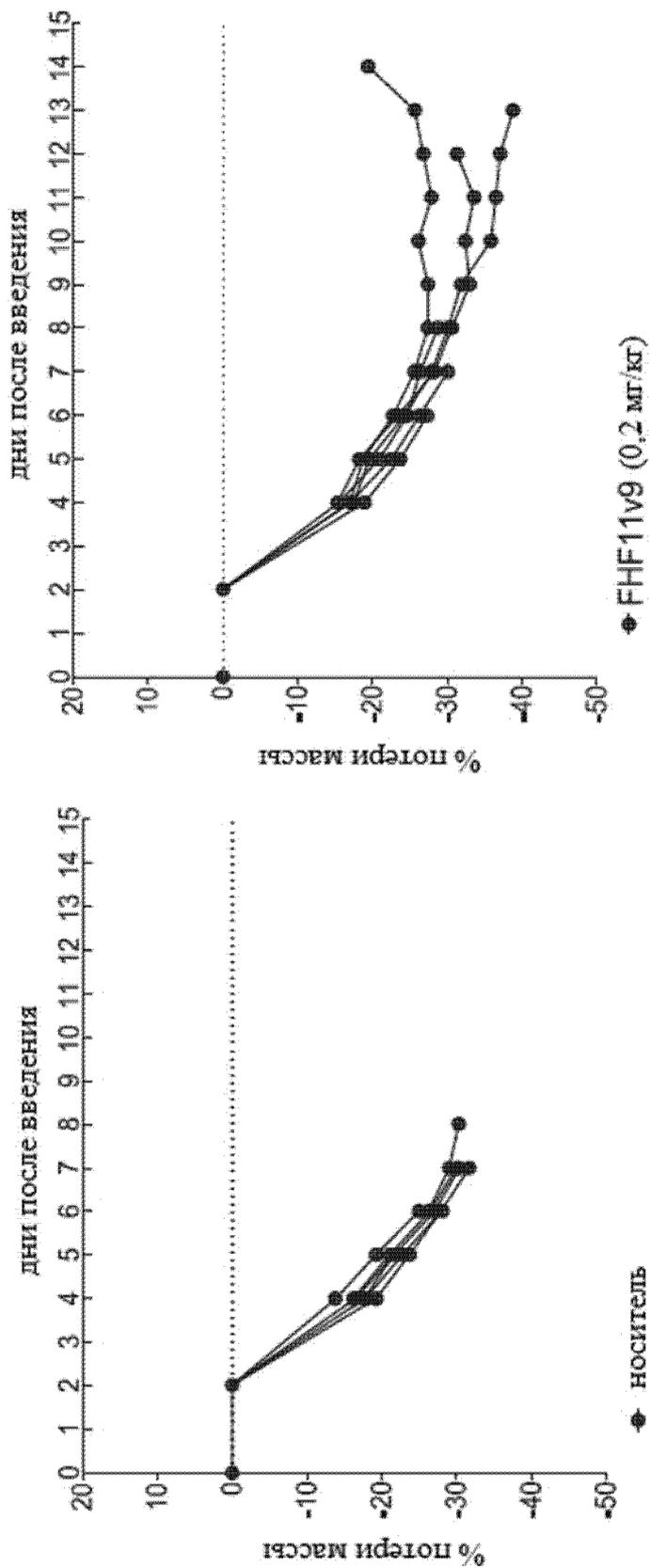
ФИГУРА 20А



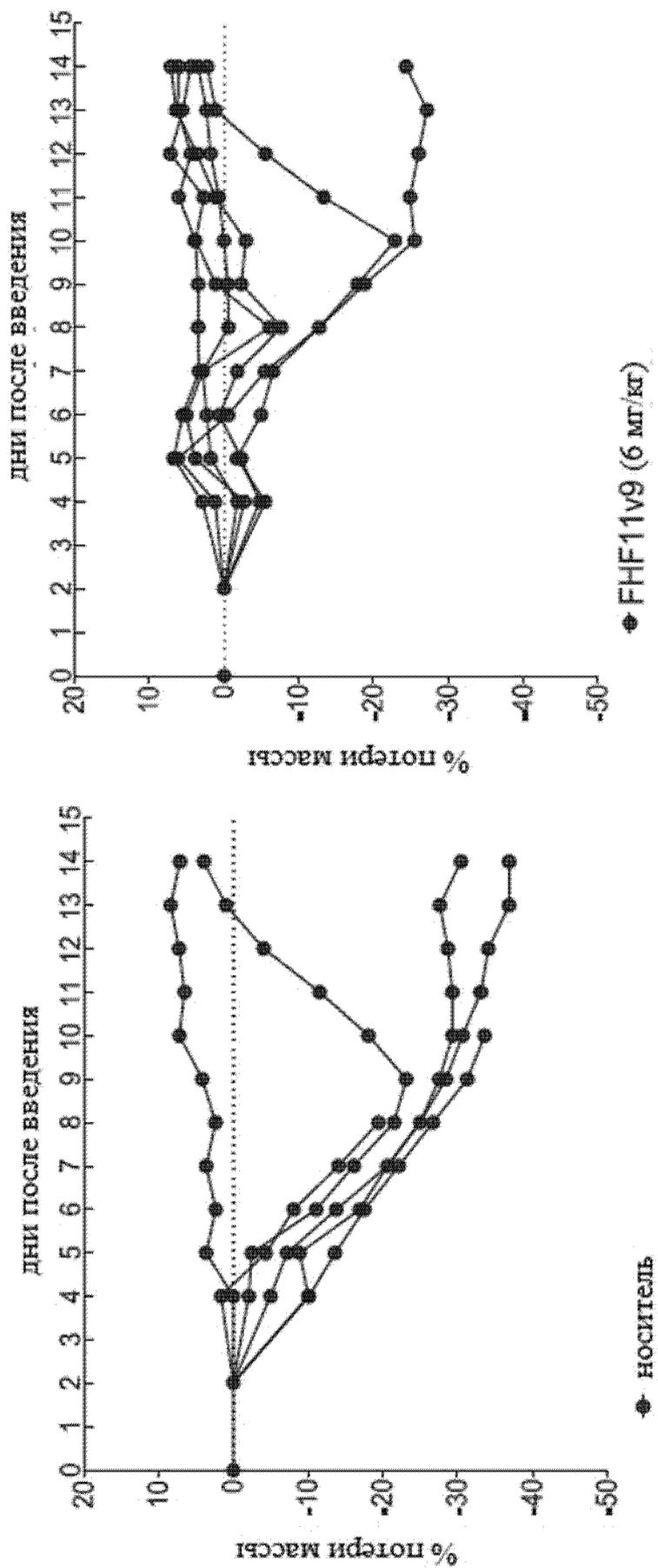
ФИГУРА 20В



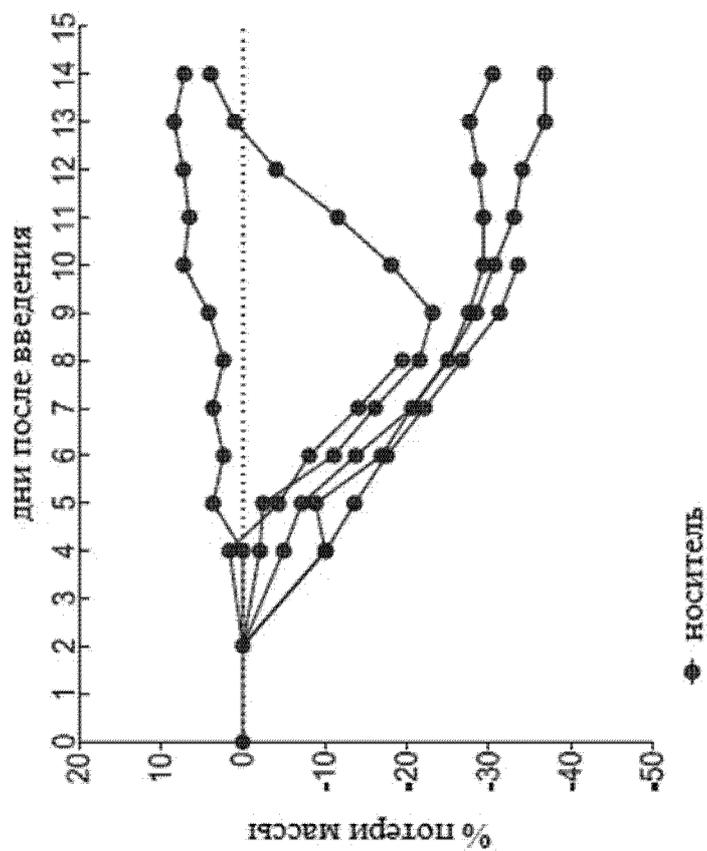
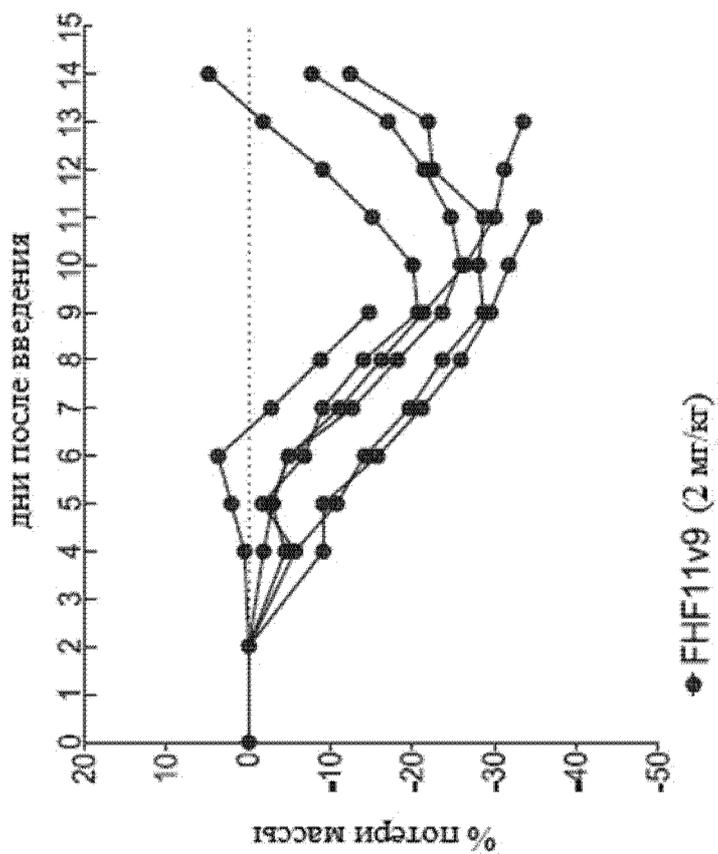
ФИГУРА 20С



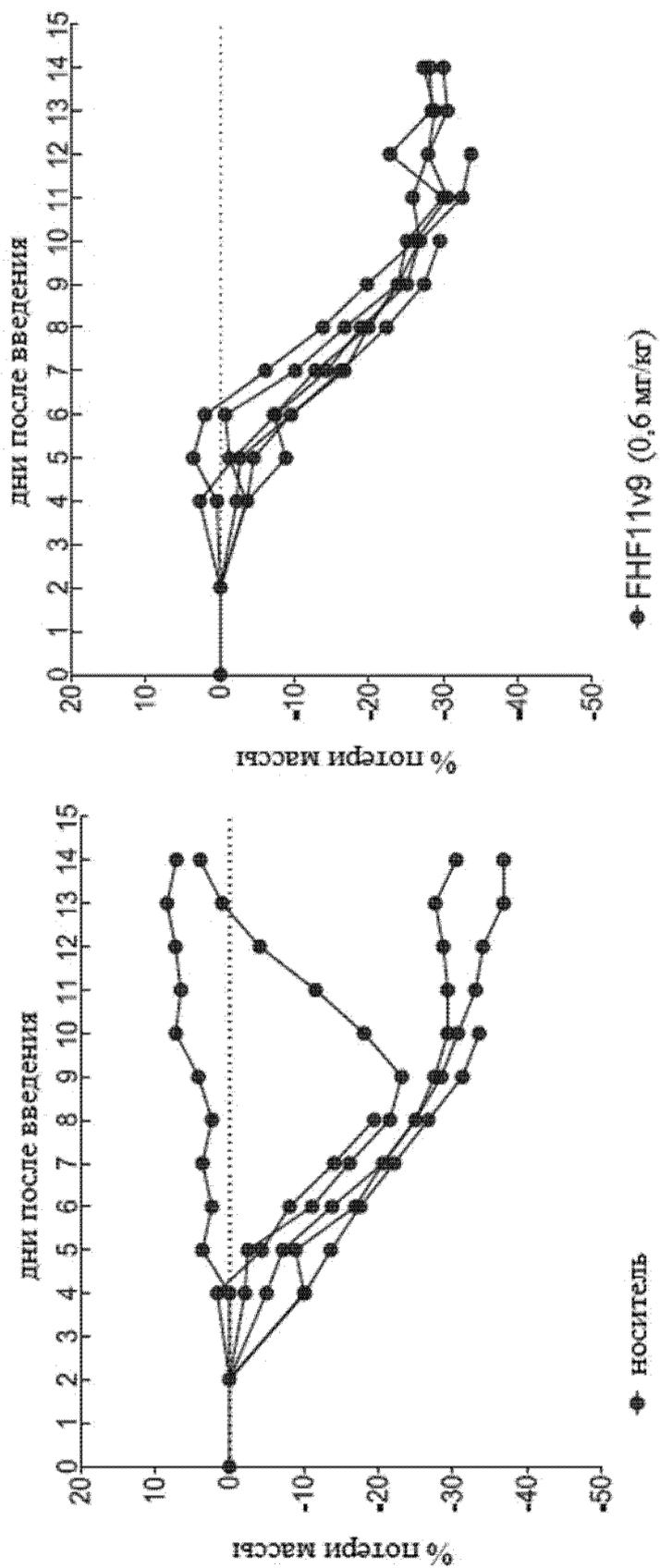
ФИГУРА 20D



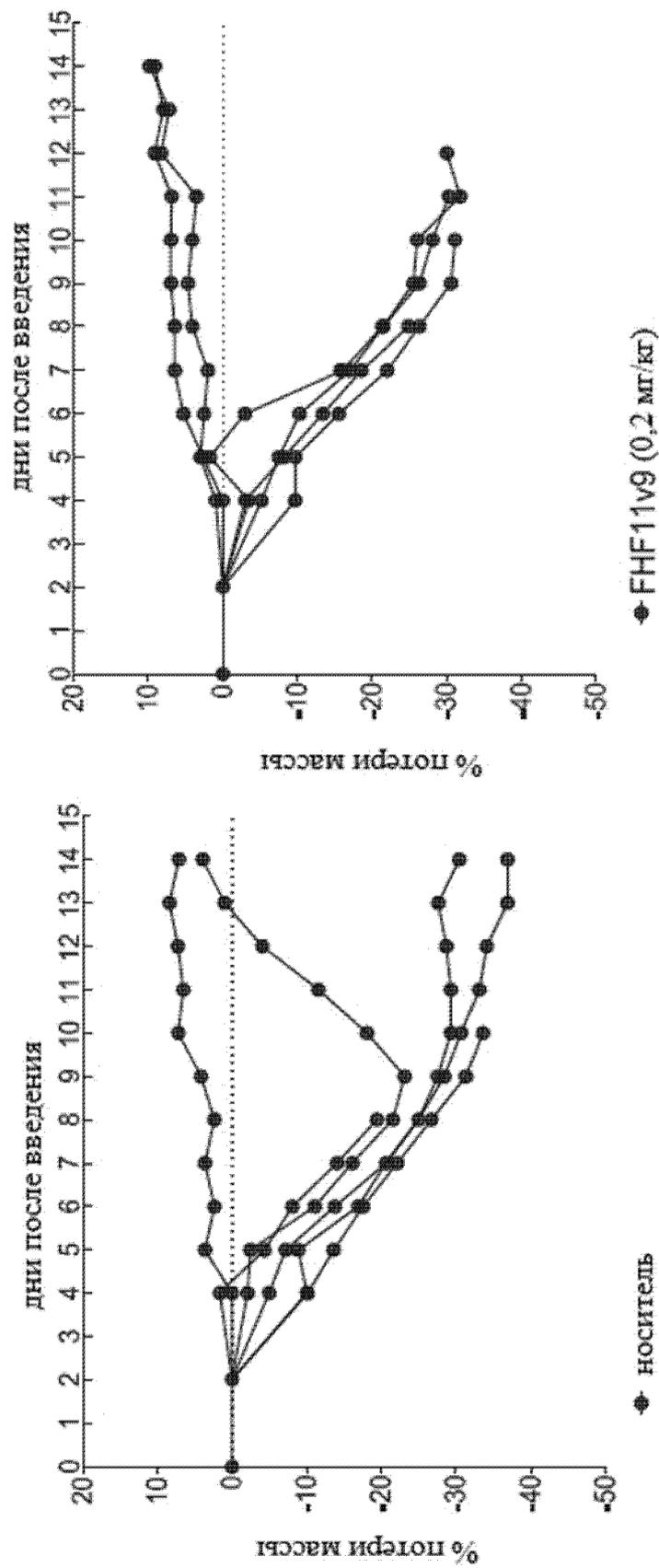
ФИГУРА 21А



ФИГУРА 21В

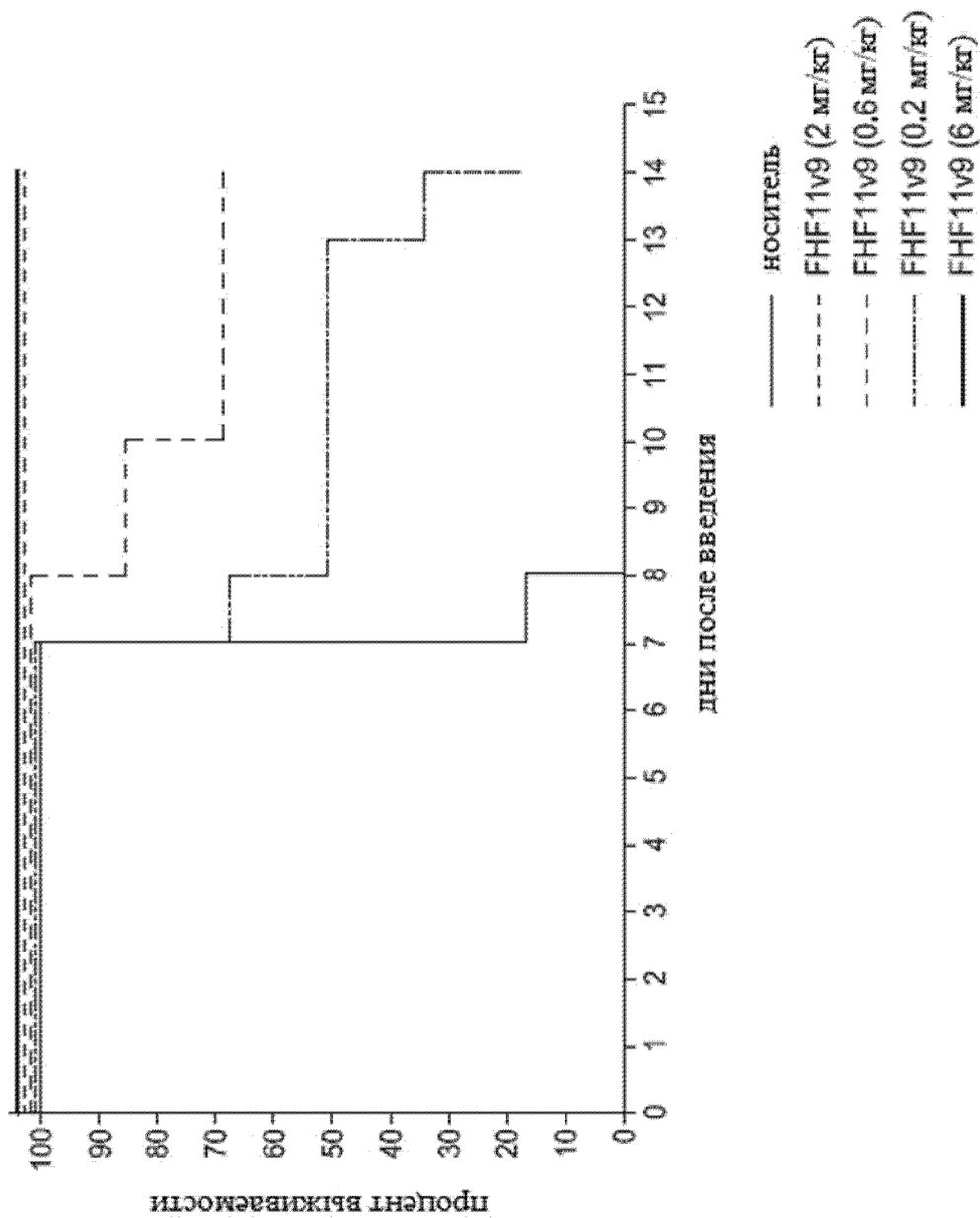


ФИГУРА 21С



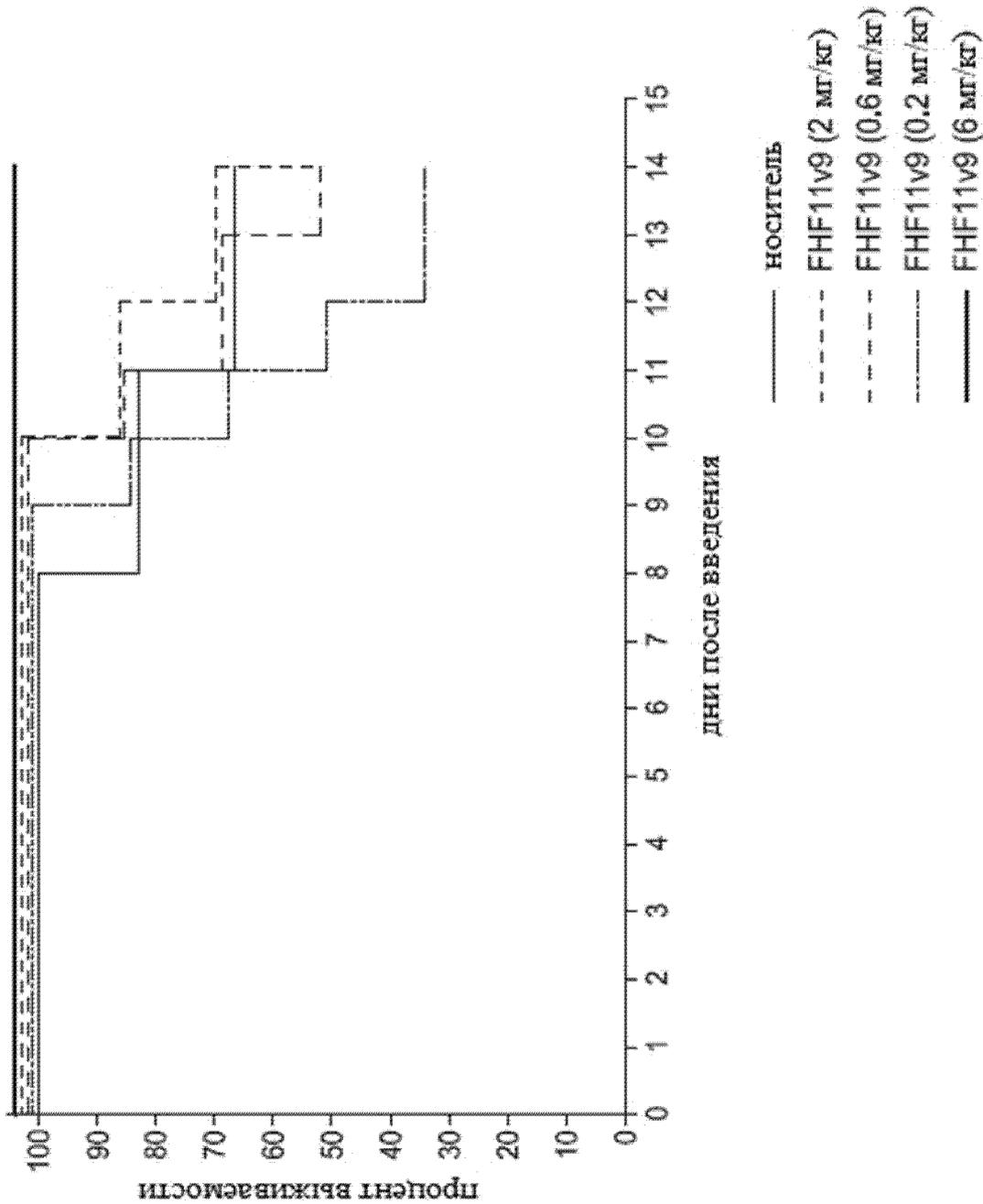
ФИГУРА 21D

Выживаемость Balb/c, в которые профилактически введены mAd и которые инфицированы H1N1 PR8/8/34

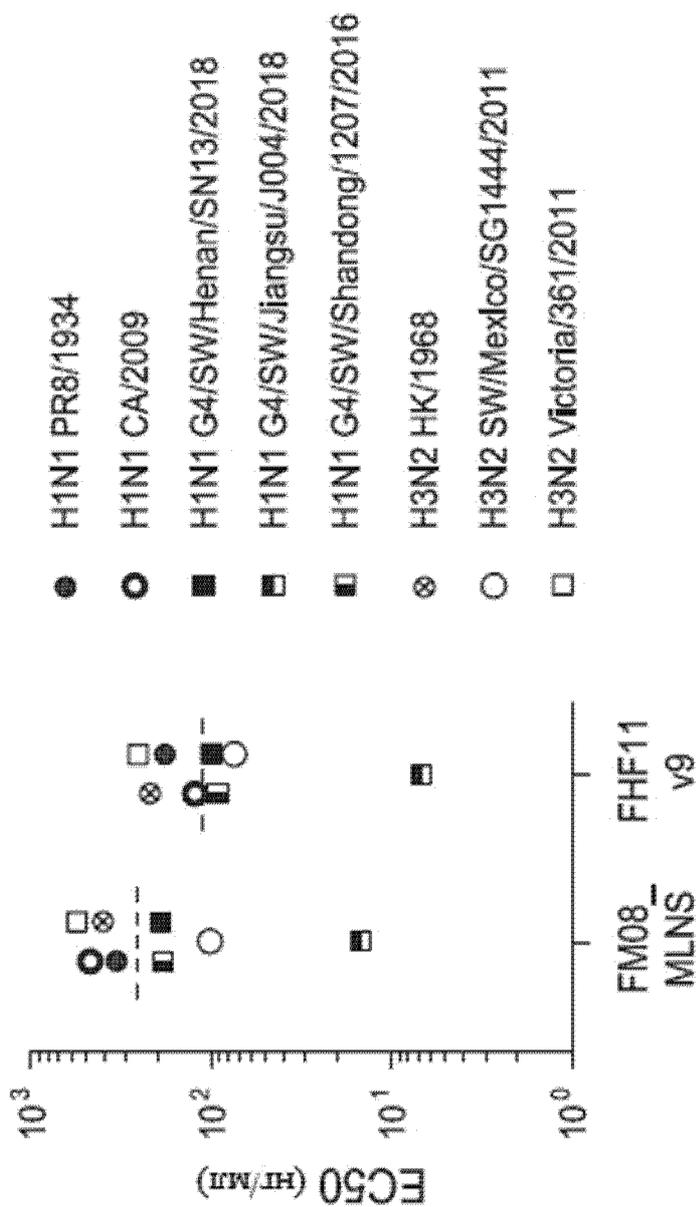


ФИГУРА 22А

Выживаемость  $V_{a1b/c}$ , в которые профилактически введены  $mAd$  и которые инфицированы H3N2 HK/68



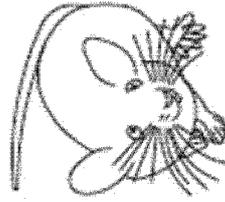
ФИГУРА 22В



Нейтрализующая активность FHF11v9 и FM08\_MLNS в отношении вирусов H1N1 и H3N2, измеренная окрашиванием IAV NP

ФИГУРА 23

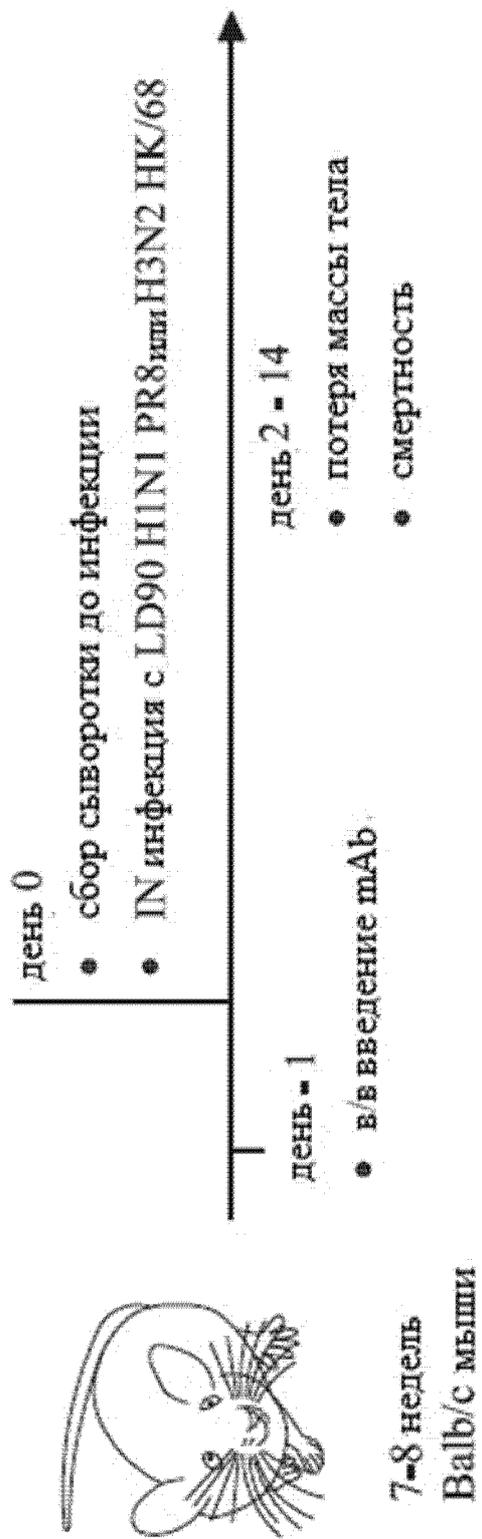
группа	штамм мыши	лечение	инфекция гриппом	конечные точки	
контроль	BALB/c	контрольный носитель	A/Puerto Rico/8/34	масса тела, смертность	
mAb-08	BALB/c	6 мг/кг	A/Puerto Rico/8/34		
mAb-08	BALB/c	2 мг/кг	A/Puerto Rico/8/34		
mAb-08	BALB/c	0.6 мг/кг	A/Puerto Rico/8/34		
mAb-08	BALB/c	0.2 мг/кг	A/Puerto Rico/8/34		
mAb-11	BALB/c	6 мг/кг	A/Puerto Rico/8/34		
mAb-11	BALB/c	2 мг/кг	A/Puerto Rico/8/34		
mAb-11	BALB/c	0.6 мг/кг	A/Puerto Rico/8/34		
mAb-11	BALB/c	0.2 мг/кг	A/Puerto Rico/8/34		
всего мышей 54					
контроль	BALB/c	контрольный носитель	A/Hong Kong/8/68		масса тела, смертность
mAb-08	BALB/c	6 мг/кг	A/Hong Kong/8/68		
mAb-08	BALB/c	2 мг/кг	A/Hong Kong/8/68		
mAb-08	BALB/c	0.6 мг/кг	A/Hong Kong/8/68		
mAb-08	BALB/c	0.2 мг/кг	A/Hong Kong/8/68		
mAb-11	BALB/c	6 мг/кг	A/Hong Kong/8/68		
mAb-11	BALB/c	2 мг/кг	A/Hong Kong/8/68		
mAb-11	BALB/c	0.6 мг/кг	A/Hong Kong/8/68		
mAb-11	BALB/c	0.2 мг/кг	A/Hong Kong/8/68		



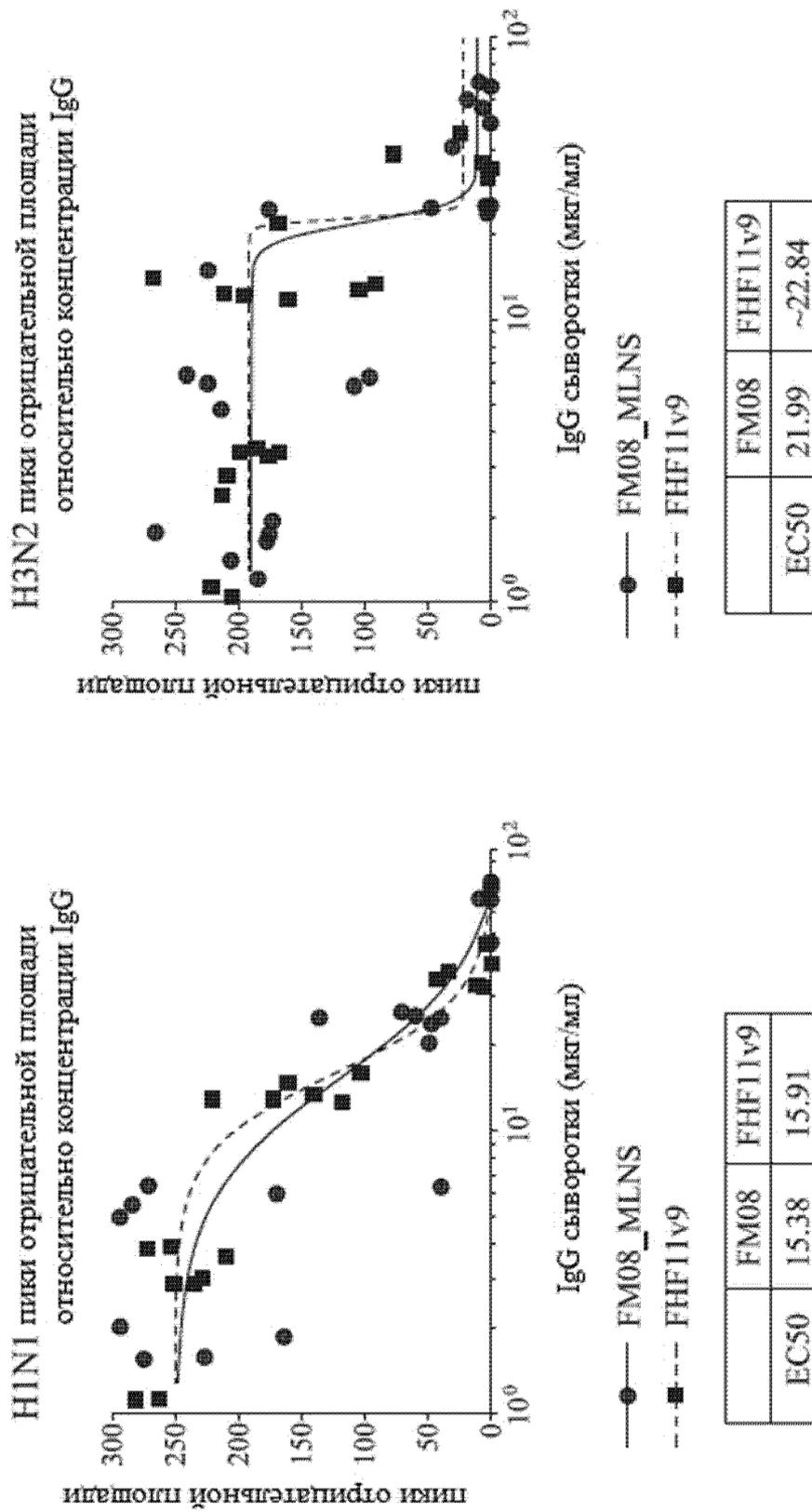
7-8 недель  
Balb/c мыши

mAb-08 = FM08\_MLNS  
mAb-11 = FHF11v9-rlgG-LS

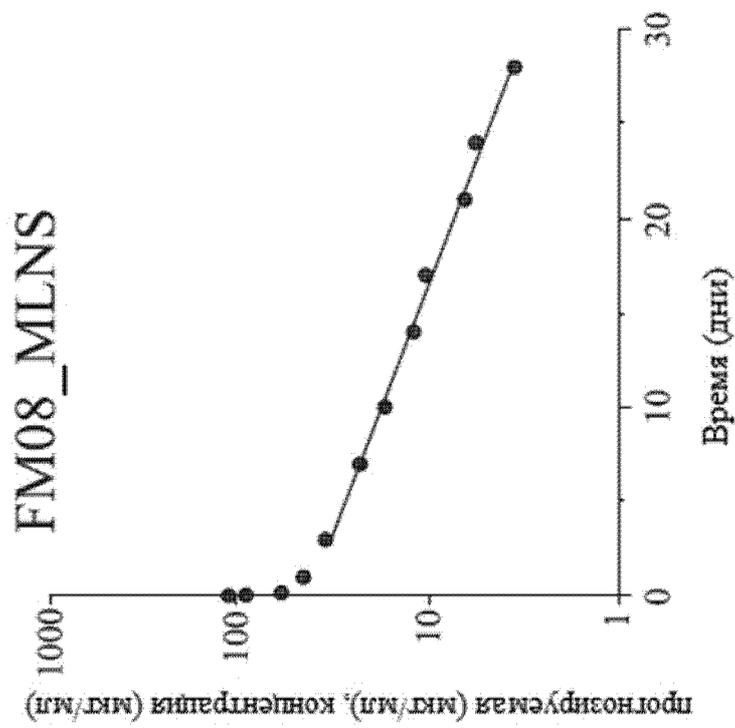
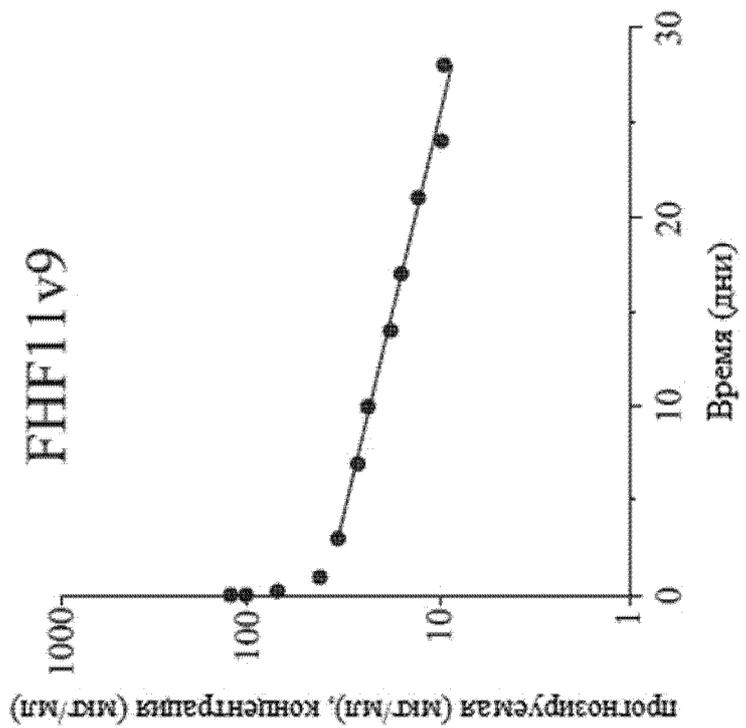
ФИГУРА 24А



ФИГУРА 24В



ФИГУРА 25



ФИГУРА 26А

группа ID	Доза (мкг)	Rsq	No_points_lambda_z	Lambda-z (1/день)	HL_Lambda_z (день)	AUClast (день*мкг/мл)	Cavg (мкг/мл)	CLss (мл/день)	Vz (мл)
FH11v9	90.00	0.98	8.00	0.10	7.21	261.50	40.29	2.23	23.25
	90.00	0.98	8.00	0.06	10.94	378.35	42.79	2.10	33.20
	95.00	0.99	8.00	0.05	12.76	608.11	66.18	1.44	26.43
	85.00	0.98	8.00	0.06	12.36	560.60	56.69	1.50	26.73
	90.00	0.96	8.00	0.05	14.34	99.53	10.12	8.89	184.00
среднее	90.000	0.978	8.000	0.064	11.524	381.621	43.215	3.233	58.723
SD	3.536	0.012	0.000	0.019	2.697	210.562	21.288	3.183	70.127
FM08-MLNS	95.00	0.99	8.00	0.09	7.65	477.10	62.77	1.51	16.71
	95.00	0.99	8.00	0.09	7.97	525.27	63.42	1.50	17.22
	100.00	0.99	8.00	0.09	7.86	471.63	59.79	1.67	18.95
	95.00	1.00	8.00	0.10	6.75	635.33	78.74	1.21	11.76
среднее	96.250	0.994	8.000	0.092	7.558	527.333	66.180	1.473	16.160
SD	2.500	0.003	0.000	0.007	0.552	75.926	8.521	0.194	3.090

• N=6 мышь/гАб  
в/в доза = 5  
мг/кг

ФИГУРА 26В