

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202391778** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
**2023.10.04**

(22) Дата подачи заявки  
**2021.12.17**

(51) Int. Cl. **G01N 33/68** (2006.01)  
**G01N 33/543** (2006.01)  
**C07K 16/42** (2006.01)  
**C07K 16/36** (2006.01)  
**A61P 7/02** (2006.01)

---

(54) **СПОСОБЫ ДЕТЕКЦИИ ПРОТИВОЛЕКАРСТВЕННЫХ АНТИТЕЛ ПРОТИВ  
АНТИТЕЛ К ФАКТОРУ XI И/ИЛИ ФАКТОРУ XIa**

---

(31) **63/127,536**

(32) **2020.12.18**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/064117**

(87) **WO 2022/133263 2022.06.23**

(71) Заявитель:  
**АНТОС ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:

**Фридхолм Дебра Э., Блумфилд  
Дэниел М., Гласспул Ройстон Дж.,  
Фриман Джонатан И. (US), Хдер  
Яссер (FR)**

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

---

(57) Настоящее изобретение относится к способам детекции и измерения противоволекарственных антител (ADA) против терапевтических антител к фактору XI и/или фактору XIa, например, у индивидуума, подвергаемого лечению указанными терапевтическими антителами к фактору XI и/или фактору XIa.

**202391778**  
**A1**

**202391778**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-578284EA/019

### СПОСОБЫ ДЕТЕКЦИИ ПРОТИВОЛЕКАРСТВЕННЫХ АНТИТЕЛ ПРОТИВ АНТИТЕЛ К ФАКТОРУ XI И/ИЛИ ФАКТОРУ XIa

#### ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет по временной патентной заявке США № 63/127536, поданной 18 декабря 2020 года, описание которой, таким образом, включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме для всех целей.

#### СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Настоящая заявка содержит список последовательностей, поданный в электронном виде в формате ASCII и включенный, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. Указанная копия ASCII, созданная 14 декабря 2021 года, названа ATD-010WO\_ST25.txt и имеет размер 39185 байт.

#### ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0003] Настоящее изобретение, в целом, относится к способам детекции и измерения противолекарственных антител (ADA) против терапевтических антител к фактору XI и/или фактору XIa, например, у индивидуума, которого лечат указанными терапевтическими антителами к фактору XI и/или фактору XIa.

#### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] В области медицины существует значительная неудовлетворенная потребность в более безопасных способах терапии для снижения тромбоземболических осложнений, таких как инсульт, системная эмболия, снижение когнитивных функций и смертность, со сравнимой или улучшенной эффективностью относительно существующих способов терапии и с более низким риском кровотечения.

[0005] Фактор XI (FXI) является сериновой протеазой, функционирующей во внутреннем и внешнем путях свертывания. Фактор XI существует в форме зимогена в виде гомодимера; после расщепления пептидной связи по R369-I370 фактор XI активируется (фактор XIa, FXIa). FXI играет небольшую роль в нормальном гемостазе в среде с высоким тканевым фактором, но играет ключевую роль при тромбозе. Генетический дефицит фактора XI ассоциирован со сниженной частотой ишемического инсульта и явлений венозной тромбоземболии (Salomon *et al.* 2008; Salomon, *et al.* (2011) *Thromb Haemost.*; 105:269-73). Проявления кровотечения у индивидуумов с дефицитом фактора XI редко встречаются, зачастую слабые, являются результатом повреждения или травмы и очень редко поражают критические органы (Salomon *et al.* 2011).

[0006] Изучены антитела, связывающиеся с фактором XI и/или фактором XIa. Например, в WO 2016/207858 описано одно из таких антител к фактору XI и/или фактору XIa, представленное в таблице 1 настоящей заявки как антитело 1. Настоящее изобретение дополняет эти разработки и относится к дополнительным клиническим способам, включающим режимы дозирования, для лечения пациентов с конкретными

тромбоэмболическими нарушениями с желаемой безопасностью и эффективностью. Кроме того, настоящее изобретение дополняет более ранние разработки в этой области, т.к. относится к составам, содержащим такие антитела к FXI и/или FXIa, являющимся достаточно стабильными и подходящими для введения пациентам.

### **СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0007] Настоящее изобретение относится к способам детекции и измерения антител к фактору XI и/или активированному фактору XI (фактору XIa) или их антигенсвязывающих фрагментов.

[0008] Таким образом, в одном из аспектов настоящее изобретение относится к способу детекции противоядерного антитела (ADA) против антитела к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающего фрагмента, где способ включает: (a) инкубацию образца с кислотой для диссоциации комплексов антитела к фактору XI и/или к фактору XIa-антиген и/или диссоциации комплексов антитела к фактору XI и/или к фактору XIa-ADA, присутствующих в образце, для получения кислотная вытяжка, (b) инкубацию кислотной вытяжки на планшете, покрытом антителом к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающим фрагментом, (c) нейтрализацию кислотной вытяжки и (d) детекцию наличия ADA с использованием рутенированной детекторной смеси.

[0009] В некоторых вариантах осуществления образец является образцом индивидуума. В некоторых вариантах осуществления образец выбран из группы, состоящей из крови, плазмы или сыворотки индивидуума. В некоторых вариантах осуществления способ включает начальную стадию получения образца.

[0010] В некоторых вариантах осуществления кислота выбрана из группы, состоящей из уксусной кислоты, лимонной кислоты, фосфорной кислоты и их смесей. В некоторых вариантах осуществления кислота является уксусной кислоты. В некоторых вариантах осуществления уксусная кислота находится в концентрации приблизительно 300 мМ.

[0011] В некоторых вариантах осуществления антиген является фактором XI и/или фактором XIa. В некоторых вариантах осуществления планшет покрывают стрептавидином. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент на планшете находится в концентрации, выбранной из группы, состоящей из приблизительно 0,1 мкг/мл, приблизительно 0,25 мкг/мл, приблизительно 0,5 мкг/мл, приблизительно 0,75 мкг/мл и приблизительно 1 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент на планшете находится в концентрации приблизительно 0,25 мкг/мл.

[0012] В некоторых вариантах осуществления нейтрализация позволяет ADA связываться с антителом к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающим фрагментом на покрытом планшете. В некоторых вариантах осуществления в нейтрализации используют основание при pH приблизительно 8,0. В некоторых вариантах

осуществления в нейтрализации используют основание, выбранное из группы, состоящей из Трис, фосфата, HEPES, триэтаноламина и их смесей. В некоторых вариантах осуществления основание является Трис.

[0013] В некоторых вариантах осуществления рутенилированная детекторная смесь содержит антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело выбрано из группы, состоящей из антитела к IgG человека, антитела к IgM человека, антитела к IgE человека, антитела к Ig кролика и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления при детекции специфически определяют ADA, но не фактор XI и/или фактор XIa.

[0014] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает промывку после инкубации.

[0015] В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации приблизительно 0,25 мкг/мл.

[0016] В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH) содержащую определяющие комплементарность области HCDR1, HCDR2, и HCDR3 в SEQ ID NO: 9 или 29; и переменную область легкой цепи (VL), содержащую определяющие комплементарность области LCDR1, LCDR2, LCDR3 в SEQ ID NO: 19 или 39.

[0017] В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: i. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 24; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 25; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 33; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 34; и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 35; ii. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 26; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 27; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 28; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 36; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 37; и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 38; iii. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 44; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 45; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 47; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 37; и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 15; или iv. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 46; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 4; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 5; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 33; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 14; и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 15.

[0018] В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 29, и VH с 90%

идентичности в отношении нее; и переменную область легкой цепи (VL), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19, 39, и VL с 90% идентичности в отношении нее. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9 и 29; и переменную область легкой цепи (VL), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19 и 39.

[0019] В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, 11, и тяжелую цепь с 90% идентичности в отношении нее; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, 21, и легкую цепь с 90% идентичности в отношении нее. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41.

[0020] В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa является моноклональным антителом человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa имеет изотип IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa содержит замены D265A и P329A в Fc-домене.

[0021] В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу детекции противоядерного антитела (ADA) против антитела к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающего фрагмента, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: i. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 24; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 25; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 33; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 34; и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 35; ii. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 26; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 27; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 28; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 36; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 37; и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 38; iii. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 44; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 45; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 47; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 37; и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 15; или iv. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 46; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 4; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 5; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 33; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 14; и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 15, и где способ включает: (a) инкубацию образца с кислотой для диссоциации комплексов антитела к фактору XI и/или к фактору XIa-антиген и/или

диссоциации комплексов антитело к фактору XI и/или к фактору XIa-ADA, присутствующих в образце, для получения кислотной вытяжки, (b) инкубацию кислотной вытяжки на планшете, покрытом антителом к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающим фрагментом, (c) нейтрализацию кислотной вытяжки, и (d) детекцию наличия ADA с использованием рутенилированной детекторной смеси.

[0022] В некоторых вариантах осуществления образец является образцом индивидуума. В некоторых вариантах осуществления образец выбран из группы, состоящей из крови, плазмы или сыворотки индивидуума. В некоторых вариантах осуществления способ включает начальную стадию получения образца.

[0023] В некоторых вариантах осуществления кислота выбрана из группы, состоящей из уксусной кислоты, лимонной кислоты, фосфорной кислоты и их смесей. В некоторых вариантах осуществления кислота является уксусной кислотой. В некоторых вариантах осуществления уксусная кислота находится в концентрации приблизительно 300 мМ.

[0024] В некоторых вариантах осуществления антиген является фактором XI и/или фактором XIa. В некоторых вариантах осуществления планшет покрывают стрептавидином. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент на планшете находится в концентрации, выбранной из группы, состоящей из приблизительно 0,1 мкг/мл, приблизительно 0,25 мкг/мл, приблизительно 0,5 мкг/мл, приблизительно 0,75 мкг/мл и приблизительно 1 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент на планшете находится в концентрации приблизительно 0,25 мкг/мл.

[0025] В некоторых вариантах осуществления нейтрализация позволяет ADA связываться с антителом к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающим фрагментом на покрытом планшете. В некоторых вариантах осуществления в нейтрализации используют основание при pH приблизительно 8,0. В некоторых вариантах осуществления в нейтрализации используют основание, выбранное из группы, состоящей из Трис, фосфата, HEPES, триэтаноламина и их смесей. В некоторых вариантах осуществления основание является Трис.

[0026] В некоторых вариантах осуществления рутенилированная детекторная смесь содержит антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело выбрано из группы, состоящей из антитела к IgG человека, антитела к IgM человека, антитела к IgE человека, антитела к Ig кролика и любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления при детекции специфически определяют ADA, а не фактор XI и/или фактор XIa.

[0027] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает промывку после инкубации.

[0028] В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации приблизительно 0,25 мкг/мл.

[0029] В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 29, и VH с 90% идентичности в отношении нее; и переменную область легкой цепи (VL), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19, 39, и VL с 90% идентичности в отношении нее. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9 и 29; и переменную область легкой цепи (VL), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19 и 39.

[0030] В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, 11, и тяжелую цепь с 90% идентичности в отношении нее; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, 21, и легкая цепь с 90% идентичности в отношении нее. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41.

[0031] В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa является моноклональным антителом человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa имеет изотип IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa содержит замены D265A и P329A в Fc-домене.

[0032] Другие варианты осуществления и подробности изобретения приведены в настоящем описании ниже.

### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ**

[0033] Фиг. 1 является схемой исходного мостикового анализа для детекции противолечарственных антител (ADA) в образцах яванского макака.

[0034] Фиг. 2 является схемой модифицированного мостикового анализа со стадией истощения фактора XI/фактора XIa для детекции ADA в образцах яванского макака.

[0035] Фиг. 3 является схемой модифицированного мостикового анализа с использованием рутенированного антитела к Ig обезьяны для детекции ADA в образцах яванского макака.

[0036] Фиг. 4 является схемой анализа ADA для образцов яванского макака.

[0037] Фиг. 5 является схемой анализа ADA для образцов человека.

### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

#### **Определения**

[0038] Для облегчения понимания настоящего изобретения ниже определен ряд терминов и фраз.

[0039] В рамках изобретения термины в единственном числе означают "один или более" и включают множественное число, если контекст не указывает на иное.

[0040] В рамках изобретения термины "белок FXI", "антиген FXI" и "FXI" используют взаимозаменяемо, и они относятся к белку фактора XI в разных биологических видах. Фактор XI является фактором свертывания XI плазмы млекопитающего, гликопротеином, присутствующим в плазме человека в концентрации 25-30 нМ в виде зимогена, который при превращении посредством ограниченного протеолиза в активную сериновую протеазу участвует во внутреннем пути свертывания крови.

[0041] Термины "белок FXIa", "антиген FXIa" и "FXIa", используют взаимозаменяемо, и они относятся к активированному белку FXI разных биологических видов. Зимоген фактора XI превращается в активную форму, фактор свертывания XIa (FXIa), в результате контактной фазы свертывания крови или тромбин-опосредованной активации на поверхности тромбоцитов. Во время этой активации фактора XI внутренняя пептидная связь расщепляется в каждой из двух цепей, что приводит к образованию активированного фактора XIa, сериновой протеазы, состоящей из двух тяжелых и двух легких цепей, удерживаемых вместе дисульфидными связями. Эта сериновая протеаза FXIa превращает фактор свертывания IX в IXa, который затем активирует фактор свертывания X (Xa). Затем Xa может опосредовать активацию фактора свертывания II/тромбина. Например, FXI человека имеет последовательность, приведенную в таблице 1 (SEQ ID NO: 1), и описан в предшествующих статьях и литературе (Mandle RJ Jr, *et al.* (1979) *Blood*; 54(4):850; референсная последовательность NCBI: AAA51985).

[0042] Что касается настоящего описания, термины "FXI" и "FXIa" (и т.п.) включают мутантов и вариантов природного белка FXI и FXIa, соответственно, имеющего, по существу, ту же аминокислотную последовательность, что и нативная первичная структура (аминокислотная последовательность), описанная в указанных выше статьях.

[0043] В рамках изобретения термин "каталитический домен", "каталитический домен сериновой протеазы" и схожие термины означают аминокислоты Ile370-Val607, отсчитываемые от Glu1 на N-конце зрелого белка, находящегося в кровотоке. Его также можно описать как остатки 388-625 на C-конце FXI. В рамках изобретения термин "активный центр" означает каталитическую триаду, состоящую из аминокислот His413, Asp462 и Ser557. (Bane and Gailani (2014) *Drug Disc.* 19(9)).

[0044] В рамках изобретения термин "антитело" означает целое антитело и любой антигенсвязывающий фрагмент (т.е. "антигенсвязывающую часть") или его отдельную цепь. Целое антитело является гликопротеином, содержащим по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные друг с другом дисульфидными связями. Каждая тяжелая цепь состоит из варибельной области тяжелой цепи (сокращенно обозначаемой в настоящем описании как VH) и константная область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи состоит из трех домены, CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из варибельной области легкой цепи (сокращенно обозначаемой в настоящем описании как VL) и константная область легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного домена, CL. Области VH и VL можно дополнительно разделять на области гиперварибельности, обозначаемые как определяющие

комплементарность области (CDR), чередующиеся с областями, являющимися более консервативными, обозначаемыми как каркасные области (FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от amino-конца до карбокси-конца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Варибельные области тяжелых и легких цепей содержат связывающий домен, взаимодействующий с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами организма-хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента. В некоторых конкретных аспектах антитело может являться моноклональным антителом, антителом человека, гуманизированным антителом, камелизированным антителом или химерным антителом. Антитела могут иметь любой изотип (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), класс (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласс.

[0045] CDR антигенсвязывающего участка можно определять способами, описанными в Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) и Kabat *et al.*, Sequences of protein of immunological interest. (1991), Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), и MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996). CDR, определенные с помощью этих определений, как правило, включают перекрытия или подгруппы аминокислотных остатков при сравнении друг с другом. В некоторых вариантах осуществления термин "CDR" является CDR, определенным по MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) и Martin A., Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains, in Antibody Engineering, Kontermann and Dubel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001). В некоторых вариантах осуществления термин "CDR" является CDR, определенным по Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) и Kabat *et al.*, Sequences of protein of immunological interest (1991). В некоторых вариантах осуществления CDR тяжелой цепи и CDR легкой цепи антитела определяют с использованием различных условных обозначений. Например, в некоторых вариантах осуществления CDR тяжелой цепи определяют по MacCallum (выше), и CDR легкой цепи определяют по Kabat (выше). "CDRH1", "CDRH2" и "CDRH3" означают CDR тяжелой цепи, и "CDRL1", "CDRL2" и "CDRL3" означают CDR легкой цепи.

[0046] В рамках изобретения термины "состав доставки лекарственного средства" или "состав для внутривенного введения лекарственного средства" относятся к фармацевтическому составу, содержащему комбинацию активного средства с носителем, инертным или активным, делающую композицию особенно подходящей для диагностического или терапевтического использования *in vivo* или *ex vivo*.

[0047] В рамках изобретения термины "индивидуум" и "пациент" относятся к организму, подлежащему лечению способами и композициями, представленными в настоящем описании. Такие организмы предпочтительно включают, в качестве неограничивающих примеров, млекопитающих (например, мышей, обезьян, лошадей, крупный рогатый скот, свиней, приматов, псовых, кошачьих и т.п.) и, более

предпочтительно, включают людей. В некоторых вариантах осуществления индивидуум является яванским макаком. В некоторых вариантах осуществления индивидуум является человеком.

[0048] В рамках изобретения "тромбоэмболическое нарушение" или схожие термины относятся к любому количеству состояний или заболеваний, при которых внутренний и/или общий пути свертывания аномально активированы или не являются естественным образом дезактивированными (например, без терапевтических средств). Эти состояния включают, в качестве неограничивающих примеров, тромбоэмболический инсульт и другие типы инсульта ишемического происхождения, фибрилляцию предсердий, профилактику инсульта при фибрилляции предсердий (SPAF), тромбоз глубоких вен, венозную тромбоэмболию и легочную эмболию. Они также могут включать профилактику и лечения связанного с катетеризацией тромбоза (например, катетером Хикмана у пациентов с онкологическими заболеваниями), при котором катетеры тромбируются, и экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО), при котором в трубках и мембране для оксигенации образуются тромбы.

[0049] В рамках изобретения "тромбоэмболическое нарушение" или схожие термины также могут относиться к любому количеству из следующего, где антитела к FXI и/или FXIa или их антигенсвязывающие фрагменты по изобретению можно использовать для профилактики или лечения:

- тромбоэмболии у индивидуумов с предполагаемой или подтвержденной аритмии сердца, такой как пароксизмальная, хроническая или постоянная фибрилляция предсердий или трепетание предсердий;
- профилактики инсульта при фибрилляции предсердий (SPAF), субпопуляцией которой являются пациенты с AF, подверженные чрескожным коронарным вмешательствам (PCI);
- лечения острых венозных тромбоэмболических осложнений (VTE) и длительная вторичная профилактика VTE у пациентов с высоким риском кровотечения;
- венозной тромбоэмболии, где индивидуум является индивидуумом детского возраста (VTE детского возраста);
- церебральных и сердечно-сосудистых явлений при вторичной профилактике после транзиторной ишемической атаки (ТИА) или инсульта без потери трудоспособности и профилактике тромбоэмболических явлений при сердечной недостаточности с синусовым ритмом;
- геморрагического инсульта;
- тромбообразования в левом предсердии и тромбоэмболии у индивидуумов, подвергающихся кардиоверсии для аритмии сердца;
- тромбоз до, во время и после абляции по причине аритмии сердца;
- венозного тромбоза, включающего, в качестве неограничивающих примеров, лечение и вторичную профилактику тромбоза глубоких или поверхностных вен в нижних

или верхних конечностях, тромбоз брюшных и грудных вен, тромбоз синусов и тромбоз яремных вен;

- тромбоза на любой искусственной поверхности в венах или артериях, подобной катетеру, электродам кардиостимулятора, синтетических артериальных трансплантатах; механическим или биологическим клапанам сердца или левожелудочковом устройстве вспомогательного кровообращения;

- легочной эмболии у пациентов с венозным тромбозом или без него;

- хронической тромбоэмболической легочной гипертензии (СТЕРН);

- артериального тромбоза на разрушенной атеросклеротической бляшке, тромбоза на внутриартериальном протезе или катетере и тромбоза в кажущихся нормальными артериях, это включает, в качестве неограничивающих примеров, острые коронарные синдромы, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST, инфаркт миокарда без подъема сегмента ST, нестабильную стенокардию, тромбоз стента, тромбоз любой искусственной поверхности в артериальной системе и тромбоз легочных артерий у индивидуумов с легочной гипертензией или без нее;

- тромбоза и тромбоэмболии у пациентов, подвергаемых чрескожным коронарным вмешательствам (PCI);

- кардиоэмболических и криптогенных инсультов;

- системной эмболии не в центральной нервной системе (системной эмболии не в ЦНС);

- тромбоза у пациентов с инвазивными и неинвазивными злокачественными новообразованиями;

- тромбоза на месте постоянного катетера;

- тромбоза и тромбоэмболии у тяжелобольных пациентов;

- тромбоза и тромбоэмболии сердца, включая, в качестве неограничивающих примеров, тромбоз сердца после инфаркта миокарда, тромбоз сердца, связанный с таким состоянием, как аневризма сердца, фиброз миокарда, увеличение и недостаточность сердца, миокардит и искусственные поверхности в сердце;

- тромбоэмболии у пациентов с пороком сердца с фибрилляцией предсердий или без нее;

- тромбоэмболии на месте механических или биологических искусственных клапанов;

- тромбоэмболии у пациентов с нативными или искусственными сердечными патчами, артериальными или венозными изоляционными трубками после восстановительной операции на сердце в случае простых или комплексных пороков сердца;

- венозного тромбоза и тромбоэмболии после протезирования коленного сустава, протезирования тазобедренного сустава и ортопедического хирургического вмешательства, торакального или абдоминального хирургического вмешательства;

- артериального или венозного тромбоза после нейрохирургического вмешательства, включая внутрочерепные и спинномозговые вмешательства;

- врожденной или приобретенной тромбофилии, включая, в качестве неограничивающих примеров, фактор V Лейдена, мутацию протромбина, антитромбин III, недостаточности протеина C и протеина S, мутацию фактора XIII, семейную дифибриногеномию, врожденную недостаточность плазминогена, повышенные уровни фактора XI, серповидно-клеточную анемию, антифосфолипидный синдром, аутоиммунное заболевание, хроническое заболевание кишечника, нефротический синдром, гемолитическую уремию, миелопролиферативное заболевание, диссеминированное внутрисосудистое свертывание, пароксизмальную ночную гемоглобинурию и гепарин-индуцированную тромбопению;

- тромбоза и тромбоэмболии при хроническом заболевании почек; и

- тромбоза и тромбоэмболии у пациентов, подвергаемых гемодиализу, и пациенту, подвергаемых экстракорпоральной мембранной оксигенации.

[0050] В рамках изобретения, термин "минимум" или "остаточный уровень" относится к наименьшей концентрации, достигаемой лекарственным средством перед введением следующей дозы лекарственного средства.

[0051] Термины "лечить" или "лечение" и другие грамматические эквиваленты, используемые в настоящем описании, включают облегчение, уменьшение, улучшение или профилактику заболевания, состояния или симптомы, профилактику дополнительных симптомов, улучшение или профилактику основных метаболических причин симптомов, ингибирование заболевания или состояния, например, прекращение развития заболевания или состояния, облегчение заболевания или состояния, вызывание регрессирования заболевания или состояния, облегчение состояния, вызванного заболеванием или состоянием, или прекращение симптомов заболевания или состояния, и они предназначены для включения профилактики. Термины дополнительно включают достижение терапевтической пользы и/или профилактической пользы. Термин "терапевтическая польза" означает эрадикацию или улучшение основного нарушения, подвергнутого лечению. Кроме того, терапевтической пользы достигают с помощью эрадикации или улучшения одного или более физиологических симптомов, ассоциированных с основным нарушением таким образом, что улучшение наблюдают у пациента, несмотря на то, что пациент все еще может страдать основным нарушением.

[0052] В рамках изобретения термин "флакон" относится к контейнеру, содержащему лекарственный препарат. В некоторых вариантах осуществления флакон может являться флаконом, мешком, ручкой или шприцом.

[0053] В рамках изобретения термин "лекарственный препарат" относится к антителу к фактору XI/XIa, представленному в настоящем описании, например, антителу 1, приведенному в таблице 1, и эксципиентам, например, гистидиновому буферу, сахару и полисорбату.

[0054] Термин "приблизительно" относится к любому минимальному изменению концентрации или количества средства, не изменяющего эффективность средства в препарате состава и при лечении заболевания или нарушения. В некоторых вариантах

осуществления термин "приблизительно" может включать  $\pm 5\%$ ,  $\pm 10\%$  или  $\pm 15\%$  конкретного числового значения или точки данных.

[0055] В настоящем описании диапазоны могут быть выражены как диапазон от "приблизительно" одного конкретного значения и/или до "приблизительно" другого конкретного значения. Когда такой диапазон выражен, другой аспект включает диапазон от одного конкретного значения и/или другого конкретного значения. Аналогично, если значения выражают как приближенные с использованием предшествующего термина "приблизительно", следует понимать, что конкретное значение образует другой аспект. Следует понимать, что конечные точки каждого из диапазонов являются значимыми в отношении другой конечной точки и не зависят от другой конечной точки. Также следует понимать, что существует ряд значений, представленных в настоящем описании, и что каждое значение также описано как это "приблизительное" конкретное значение в дополнение к самому значению. Также следует понимать, что на всем протяжении настоящей заявки, данные представлены в ряде разных форматов и эти данные представляют конечные точки, начальные точки и диапазоны для любой комбинации точек данных. Например, если описаны конкретная точка данных "10" и конкретная точка данных "15", следует понимать, что считают описанными значения более чем, равно или более, менее чем, равно или менее и равно 10 и 15, а также от 10 до 15. Также следует понимать, что также описана каждая единица между двумя конкретными единицами. Например, если описаны 10 и 15, то также описаны 11, 12, 13 и 14.

[0056] На всем протяжении настоящего описания, если композиции описаны как имеющие, включающие или содержащие конкретные компоненты, или если способы описаны как имеющие, включающие или содержащие конкретные стадии, считают, что, помимо прочего, существуют композиции по настоящему изобретению, состоящие, по существу, из или состоящие из перечисленных компонентов, и существуют способы по настоящему изобретению, состоящие, по существу, из или состоящие из перечисленных стадий обработки.

[0057] В целом, композиции, в которых указана процентная доля, указаны по массе, если не указано иначе. Кроме того, если переменной не сопутствует определение, то предыдущее определение будет определять переменную.

#### **Антитела к фактору XI и/или активированному фактору XI (фактору XIa)**

[0058] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу детекции ADA против антитела к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающего фрагмента, связывающегося с FXI и/или FXIa человека, кролика, павиана и яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антитела к фактору FXI и/или фактора FXIa могут содержать переменный домен тяжелой цепи (VH), имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или 29. В некоторых вариантах осуществления антитела содержат VH, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29. Настоящее изобретение также относится к способу детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, где

антитела специфически связываются с белком FXI и/или FXIa и содержат CDR VH, имеющий аминокислотную последовательность любой из CDR VH, указанных в таблице 1 ниже. В частности, настоящее изобретение относится к способу детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, где антитела специфически связываются с белком FXI и/или FXIa (например, FXI и/или FXIa человека, кролика, павиана и яванского макака) и содержат (или, альтернативно, состоят из) одну, две, три или более CDR VH, имеющих аминокислотную последовательность любой из CDR VH, указанных в таблице 1 ниже (см. международную патентную заявку РСТ № РСТ/IB2016/053790, поданную 24 июня 2016 года и опубликованную как WO2016/207858, таким образом, включенную в качестве ссылки в полном объеме).

[0059] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, где антитела специфически связываются с белком FXI и/или FXIa (например, FXI и/или FXIa человека, кролика, павиана и яванского макака) и содержат переменный домен легкой цепи (VL), имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 или 39. В некоторых вариантах осуществления антитела содержат VL, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39. Настоящее изобретение также относится к способу детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, где антитела специфически связываются с белком FXI и/или FXIa (например, FXI и/или FXIa человека, кролика, павиана и яванского макака) и содержат CDR VL, имеющую аминокислотную последовательность любой из CDR VL, указанной в таблице 1 ниже. В частности, настоящее изобретение относится к способу детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, где антитела специфически связываются с белком FXIa (например, FXI и/или FXIa человека, кролика, павиана и яванского макака) и содержат (или, альтернативно, состоят из) один, два, три или более CDR VL, имеющих аминокислотную последовательность любой из CDR VL, указанных в таблице 1 ниже.

[0060] В некоторых вариантах осуществления другие антитела к фактору XI и/или к фактору XIa используют в способе детекции ADA, представленном в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), и они могут включать аминокислоты, являющиеся мутантными, но имеющими по меньшей мере 60, 70, 80, 85, 90 или 95 процентов идентичности в областях CDR с областями CDR, приведенными в последовательностях, представленных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления антитела включают мутантные аминокислотные последовательности, где не более 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот являются мутантными в областях CDR по сравнению с областями CDR, приведенными в последовательности, представленной в таблице 1.

**Таблица 1.** Примеры антител FXI/FXIa, Fab и белков FXI/FXIa

Описание последовательности	Идентификатор последовательности (SEQ ID NO)	Аминокислотная или полинуклеотидная последовательность
Полноразмерная белковая последовательность FXIa человека (референсная последовательность NCBI: AAA51985)	1	MIFLYQVVHFILEFTSVSGECVTQLLKDTCFEGGDI TTVFTPSAKYCVVCTYHPRCLLFTFTAESPSEDP TRWFTCVLKDSVTETLPRVNRTA AISGYSFKQCS HQISACNKDIYVDLDMKGINYNSSVAKSAQECQE RCTDDVHCHFFTYATRQFPSLEHRNICLLKHTQT GTPTRITKLDKVVSGFSLKSCALSNLACIRDIFPNT VFADSNIDSVMAPDAFVSGRICTHHPGCLFFTFFS QEWPKESQRNLCLLKTSEGLPSTRIKSKALS GF SLQSCRHSIPVFCHSSFYHDTDFLGEELDIVAAKS HEACQKLC TNAVRCQFFTYTPAQASCNEGKGKC YLKLSSNGSPTKILHGRGGISGYTLRLCKMDNECT TKIKPRIVGGTASVRGEWPWQVTLHTTSPTQRHL CGGSIIGNQWILTA AHCFYGVESPKILRVYSGILN QSEIKEDTSFFGVQEIIHDQYKMAESGYDIAL LKL ETTVNYTDSQRPICLPSKGDRNVIY TDCWVTGWG YRKL RDKIQNTLQKAKIPLVTNEECQKRYRGHKI THKMICAGYREGGK DACKGDSGGPLSCKHNEVW HLVGITSWGEGCAQRERPGVYTNVVEYVDWILE KTQAV
полноразмерная нуклеотидная последовательность FXIa человека (референсная последовательность NCBI: NM_000128.3)	2	AGGCACACAGGCAAAATCAAGTTCTACATCTGT CCCTGTGTATGTC ACTTGTTTGAATACGAAATA AAATTA AAAAAATAAATTCAGTGTATTGAGAA AGCAAGCAATTCTCTCAAGGTATATTTCTGACA TACTAAGATTTTAACGACTTTCACAAATATGCT GTA CTGAGAGAGAATGTTACATAACATTGAGA ACTAGTACAAGTAAATATTAAGTGAAGTGAC CATTTCTACACAAGCTCATT CAGAGGAGGATG AAGACCATTTTGGAGGAAGAAAAGCACCCCTTA TTAAGAATTGCAGCAAGTAAGCCAACAAGGTC

	TTTTCAGGATGATTTTCTTATATCAAGTGGTACA TTTCATTTTATTTACTTCAGTTTCTGGTGAATGT GTGACTCAGTTGTTGAAGGACACCTGCTTTGAA GGAGGGGACATTACTACGGTCTTCACACCAAGC GCCAAGTACTGCCAGGTAGTCTGCACTTACCAC CCAAGATGTTTACTCTTCACTTTTACGGCGGAA TCACCATCTGAGGATCCCACCCGATGGTTTACT TGTGTCCTGAAAGACAGTGTTACAGAAACTG CCAAGAGTGAATAGGACAGCAGCGATTTCTGG GTATTCTTTCAAGCAATGCTCACACCAAATAAG CGCTTGCAACAAAGACATTTATGTGGACCTAGA CATGAAGGGCATAAACTATAACAGCTCAGTTGC CAAGAGTGCTCAAGAATGCCAAGAAAGATGCA CGGATGACGTCCACTGCCACTTTTTTACGTACG CCACAAGGCAGTTTCCCAGCCTGGAGCATCGTA ACATTTGTCTACTGAAGCACACCCAAACAGGGA CACCAACCAGAATAACGAAGCTCGATAAAGTG GTGTCTGGATTTTCACTGAAATCCTGTGCACTTT CTAATCTGGCTTGTATTAGGGACATTTTCCCTA ATACGGTGTTTGCAGACAGCAACATCGACAGTG TCATGGCTCCCGATGCTTTTGTCTGTGGCCGAA TCTGCACTCATCATCCCGGTTGCTTGTTTTTTAC CTTCTTTTCCCAGGAATGGCCCAAAGAATCTCA AAGAAATCTTTGTCTCCTTAAAACATCTGAGAG TGGATTGCCCAGTACACGCATTA AAAAGAGCA AAGCTCTTTCTGGTTTCACTACAAAGCTGCA GGCACAGCATCCAGTGTTCTGCCATTCTTCAT TTTACCATGACACTGATTTCTTGGGAGAAGAAC TGGATATTGTTGCTGCAAAAAGTCACGAGGCCT GCCAGAACTGTGCACCAATGCCGTCCGCTGCC AGTTTTTTACCTATAACCCAGCCCAAGCATCCT GCAACGAAGGGAAGGGCAAGTGTTACTTAAAG CTTCTTCAAACGGATCTCCAATAAAATACTT CACGGGAGAGGAGGCATCTCTGGATACACATT AAGGTTGTGTA AAAATGGATAATGAGTGTACCAC
--	--

CAAAATCAAGCCCAGGATCGTTGGAGGAACTG  
CGTCTGTTTCGTGGTGAGTGGCCGTGGCAGGTGA  
CCCTGCACACAACCTCACCCACTCAGAGACACC  
TGTGTGGAGGCTCCATCATTGGAAACCAGTGGGA  
TATTAACAGCCGCTCACTGTTTCTATGGGGTAG  
AGTCACCTAAGATTTTGCCTGTCTACAGTGGCA  
TTTTAAATCAATCTGAAATAAAAGAGGACACAT  
CTTTCTTTGGGGTTCAAGAAATAATAATCCATG  
ATCAGTATAAAATGGCAGAAAGCGGGTATGAT  
ATTGCCTTGTTGAAACTGGAAACCACAGTGAAT  
TACACAGATTCTCAACGACCCATATGCCTGCCT  
TCCAAAGGAGATAGAAATGTAATATACTGA  
TTGCTGGGTGACTGGATGGGGGTACAGAAAAC  
TAAGAGACAAAATACAAAATACTCTCCAGAAA  
GCCAAGATACCCTTAGTGACCAACGAAGAGTG  
CCAGAAGAGATACAGAGGACATAAAATAACCC  
ATAAGATGATCTGTGCCGGCTACAGGGAAGGA  
GGGAAGGACGCTTGCAAGGGAGATTTCGGGAGG  
CCCTCTGTCCTGCAAACACAATGAGGTCTGGCA  
TCTGGTAGGCATCACGAGCTGGGGCGAAGGCT  
GTGCTCAAAGGGAGCGGCCAGGTGTTTACACC  
AACGTGGTTCGAGTACGTGGACTGGATTCTGGAG  
AAAACCTCAAGCAGTGTGAATGGGTTCACAGGG  
GCCATTGGAGTCCCTGAAGGACCCAGGATTTGC  
TGGGAGAGGGTGTTGAGTTCCTGTGCCAGCAT  
GCTTCCTCCACAGTAACACGCTGAAGGGGCTTG  
GTGTTTGTAAGAAAATGCTAGAAGAAAACAAA  
CTGTCACAAGTTGTTATGTCCAAAACCTCCCGTT  
CTATGATCGTTGTAGTTTGTGTTGAGCATTAGTC  
TCTTTGTTTTTGATCACGCTTCTATGGAGTCCAA  
GAATTACCATAAGGCAATATTTCTGAAGATTAC  
TATATAGGCAGATATAGCAGAAAATAACCAAG  
TAGTGGCAGTGGGGATCAGGCAGAAGAACTGG  
TAAAAGAAGCCACCATAAATAGATTTGTTCGAT  
GAAAGATGAAAACCTGGAAGAAAGGAGAACAA

		AGACAGTCTTCACCATTTTGCAGGAATCTACAC TCTGCCTATGTGAACACATTTCTTTTGTAAAGA AAGAAATTGATTGCATTTAATGGCAGATTTTCA GAATAGTCAGGAATTCTTGTCATTTCCATTTTA AAATATATATATAAAAAAAAAATCAGTTCGAGTAG ACACGAGCTAAGAGTGAATGTGAAGATAACAG AATTTCTGTGTGGAAGAGGATTACAAGCAGCA ATTTACCTGGAAGTGATACCTTAGGGGCAATCT TGAAGATACACTTTCCTGAAAAATGATTTGTGA TGGATTGTATATTTATTTAAAATATCTTGGGAG GGGAGGCTGATGGAGATAGGGAGCATGCTCAA ACCTCCCTAAGACAAGCTGCTGCTGTGACTATG GGCTCCCAAAGAGCTAGATCGTATATTTATTTG ACAAAATCACCATAGACTGCATCCATACTACA GAGAAAAACAATTAGGGCGCAAATGGATAGT TACAGTAAAGTCTTCAGCAAGCAGCTGCCTGTA TTCTAAGCACTGGGATTTTCTGTTTCGTGCAAAT ATTTATCTCATTATTGTTGTGATCTAGTTCAATA ACCTAGAATTTGAATTGTCACCACATAGCTTTC AATCTGTGCCAACAACTATAACAATTCATCAAGT GTG
<b>Антитело 2</b>		
HCDR1 (Kabat)	3	TAAMS
HCDR2 (Kabat)	4	GISGSGSSTYYADSVKG
HCDR3 (Kabat)	5	ELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (Chothia)	6	GFTFSTA
HCDR2 (Chothia)	7	SGSGSS
HCDR3 (Chothia)	8	ELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (IMGT)	43	GFTFSTAA
HCDR2 (IMGT)	44	ISGSGSST
HCDR3 (IMGT)	45	ARELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (комбинированная)	46	GFTFSTAAMS

HCDR2 (комбинированная)	4	GISGSGSSTYYADSVKG
HCDR3 (комбинированная)	5	ELSYLYSGYYFDY
VH	9	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTAAM SWVRQAPGKGLEWVSGISGSGSSTYYADSVKGRF TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELSY LYSGYYFDYWGGQGLVTVSS
ДНК, кодирующая VH	10	CAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGGTGGCCT GGTGCAGCCGGGTGGCAGCCTGCGTCTGAGCTG CGCGGCGTCCGGATTCACCTTTTCTACTGCTGCT ATGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGT CTCGAGTGGGTTTCCGGTATCTCTGGTTCTGGTT CTTCTACCTACTATGCGGATAGCGTGAAAGGCC GCTTTACCATCAGCCGCGATAATTCGAAAAACA CCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGG AAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGAAC TGTCTTACCTGTACTCTGGTTACTACTTCGATTA CTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGCTC A
Тяжелая цепь	11	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTAAM SWVRQAPGKGLEWVSGISGSGSSTYYADSVKGRF TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELSY LYSGYYFDYWGGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK

<p>ДНК, кодирующая тяжелую цепь</p>	<p>12</p>	<p>CAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGGTGGCCT GGTGCAGCCGGGTGGCAGCCTGCGTCTGAGCTG CGCGGCGTCCGGATTCACCTTTTCTACTGCTGCT ATGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCAAAGGT CTCGAGTGGGTTTCCGGTATCTCTGGTTCTGGTT CTTCTACCTACTATGCGGATAGCGTGAAAGGCC GCTTTACCATCAGCCGCGATAATTCGAAAAACA CCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGG AAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGAAC TGTCTTACCTGTA CTCTGGTTACTACTTCGATTA CTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGCTC AGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTCTTCCCCCT GGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCAC AGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT CCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAG GCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGG CTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGG GCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTT GAGCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGC CCACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGCGGGGGG ACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAA AACCCAA GGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT CACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT GGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT CCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAA ACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCGGGA GGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCT GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCG</p>
---	-----------	--

		CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGAC TCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTC ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT GCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT GTCTCCGGGTA
LCDR1 (Kabat)	13	SGSSSNIGSNDVS
LCDR2 (Kabat)	14	KNYNRPS
LCDR3 (Kabat)	15	SAWDQRQFDVV
LCDR1 (Chothia)	16	SSSNIGSND
LCDR2 (Chothia)	17	KNY
LCDR3 (Chothia)	18	WDQRQFDV
LCDR1 (IMGT)	47	SSNIGSND
LCDR2 (IMGT)	37	KNY
LCDR3 (IMGT)	15	SAWDQRQFDVV
LCDR1 (комбинированная)	33	SGSSSNIGSNDVS
LCDR2 (комбинированная)	14	KNYNRPS
LCDR3 (комбинированная)	15	SAWDQRQFDVV
VL	19	DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGSNDVSW YQQLPGTAPKLLIYKNYNRPSGVPDRFSGSKSGTS ASLAITGLQAEDEADYYCSAWDQRQFDVVFSGG TKLTVL
ДНК, кодирующая VL	20	GATATCGTGCTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAGC GGTGCACCGGGCCAGCGCGTGACCATTAGCTGT AGCGGCAGCAGCAGCAACATTGGTTCTAACGA CGTGTCTTGGTACCAGCAGCTGCCGGGCACGGC GCCGAAACTGCTGATCTACAAAACTACAACC GCCCGAGCGGCGTGCCGGATCGCTTTAGCGGAT CCAAAAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCGATT ACCGGCCTGCAAGCAGAAGACGAAGCGGATTA

		TTACTGCTCTGCTTGGGACCAGCGTCAGTTCGA CGTTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGT CCTA
Легкая цепь	21	DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGSNDVSW YQQLPGTAPKLLIYKNYNRPSGVPDRFSGSKSGTS ASLAITGLQAEDEADYYCSAWDQRQFDVVFSGG TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCL ISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS
ДНК, кодирующая легкую цепь	22	GATATCGTGCTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAGC GGTGCACCGGGCCAGCGCGTGACCATTAGCTGT AGCGGCAGCAGCAGCAACATTGGTTCTAACGA CGTGTCTTGGTACCAGCAGCTGCCGGGCACGGC GCCGAAACTGCTGATCTACAAAACTACAACC GCCCGAGCGGCGTGCCGGATCGCTTTAGCGGAT CCAAAAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCGATT ACCGGCCTGCAAGCAGAAGACGAAGCGGATTA TTACTGCTCTGCTTGGGACCAGCGTCAGTTCGA CGTTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGT CCTAGGTCAGCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCAC TCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGC CAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGA CTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAA GGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGG AGACCACCACACCCTCCAACAAAGCAACAAC AAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGAC GCCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACA GCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTG GAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTC A
<b>Антитело 1</b>		
HCDR1 (Kabat)	23	TAAMS
HCDR2 (Kabat)	24	GISGSGSSTYYADSVKG
HCDR3 (Kabat)	25	ELSYLYSGYYFDY

HCDR1 (Chothia)	26	GFTFSTA
HCDR2 (Chothia)	27	SGSGSS
HCDR3 (Chothia)	28	ELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (IMGT)	43	GFTFSTAA
HCDR2 (IMGT)	44	ISGSGSST
HCDR3 (IMGT)	45	ARELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (комбинированная)	46	GFTFSTAAMS
HCDR2 (комбинированная)	4	GISGSGSSTYYADSVKG
HCDR3 (комбинированная)	5	ELSYLYSGYYFDY
VH	29	QVQLLES GGGLVQP GGS LRLS CAASGFTFSTAAM SWVRQAPGKGLEWVSGISGSGSSTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELSY LYSGYYFDYWGQGLVTVSS
ДНК, кодирующая VH	30	CAGGTGCAGCTGCTGGAATCAGGCGGCGGACT GGTGCAGCCTGGCGGTAGCCTGAGACTGAGCT GCGCTGCTAGTGGCTTCACCTT TAGCACCGCCG CTATGAGCTGGGTTCGACAGGCCCCAGGGAAA GGCCTCGAGTGGGTCTCAGGGATTAGCGGTAGC GGCTCTAGCACCTACTACGCCGATAGCGTGAAG GGCCGGTTC ACTATCTCTAGGGATAACTCTAAG AACACCCTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGA GCCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGA GAGCTGAGCTACCTGTATAGCGGCTACTACTTC GACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTG TCTAGC
Тяжелая цепь	31	QVQLLES GGGLVQP GGS LRLS CAASGFTFSTAAM SWVRQAPGKGLEWVSGISGSGSSTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELSY LYSGYYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC

		<p>NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL  LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHE  DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV  VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTI  SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK  GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF  LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ  KSLSLSPGK</p>
<p>ДНК, кодирующая тяжелую цепь</p>	<p>32</p>	<p>CAGGTGCAGCTGCTGGAATCAGGCGGCGGACT  GGTGCAGCCTGGCGGTAGCCTGAGACTGAGCT  GCGCTGCTAGTGGCTTCACCTTTAGCACCGCCG  CTATGAGCTGGGTTCGACAGGCCCCAGGGAAA  GGCCTCGAGTGGGTCTCAGGGATTAGCGGTAGC  GGCTCTAGCACCTACTACGCCGATAGCGTGAAG  GGCCGGTTCACTATCTCTAGGGATAACTCTAAG  AACACCCTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGA  GCCGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGA  GAGCTGAGCTACCTGTATAGCGGCTACTACTTC  GACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTG  TCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCCTCCGTGTTC  CCTCTGGCCCCTTCCAGCAAGTCTACCTCCGGC  GGCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC  TACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAAC  TCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTC  CCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCC  CTGTCTCCGTGGTACAGTGCCTTCAAGCAGC  CTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAAC  CACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGCG  GGTGGAGCCTAAGTCCTGCGACAAGACCCACA  CCTGTCCTCCCTGCCCTGCTCCTGAACTGCTGG  GCGGCCCTTCTGTGTTCTGTTCCTCCAAAGCC  CAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGA  AGTGACCTGCGTGGTGGTGGCCGTGTCCACGA  GGATCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGA  CGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGC</p>

		CTCGGGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGG GTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGAC TGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAAGT CTCCAACAAGGCCCTGGCCGCCCTATCGAAAA GACAATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGG AACCCAGGTGTACACCCTGCCACCCAGCCGGG AGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCTGACC TGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCTCCGATATC GCCGTGGAGTGGGAGTCTAACGGCCAGCCTGA GAACAAC TACAAGACCACCCCTCCTGTGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTGTACTCCAAACTG ACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAA CGTGTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCT GCACAACCACTACACCAGAAGTCCCTGTCCCT GTCTCCCGGCAAG
LCDR1 (Kabat)	33	SGSSSNIGSNDVS
LCDR2 (Kabat)	34	KNYNRPS
LCDR3 (Kabat)	35	SAWDQRQFDVV
LCDR1 (Chothia)	36	SSSNIGSND
LCDR2 (Chothia)	37	KNY
LCDR3 (Chothia)	38	WDQRQFDV
LCDR1 (IMGT)	47	SSNIGSND
LCDR2 (IMGT)	37	KNY
LCDR3 (IMGT)	15	SAWDQRQFDVV
LCDR1 (комбинированная)	33	SGSSSNIGSNDVS
LCDR2 (комбинированная)	14	KNYNRPS
LCDR3 (комбинированная)	15	SAWDQRQFDVV
VL	39	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNDVS WYQQLPGTAPKLLIYKNYNRPSGVPDRFSGSKSG TSASLAISGLQSEDEADYYCSAWDQRQFDVVFGG GTKLTVL

ДНК, кодирующая VL	40	CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGCGCTAGT GGCACCCCTGGTCAAAGAGTGACTATTAGCTGT AGCGGCTCTAGCTCTAATATCGGCTCTAACGAC GTCAGCTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCC CCTAAGCTGCTGATCTATAAGAACTATAATAGG CCTAGCGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGATCT AAATCAGGGACTTCTGCTAGTCTGGCTATTAGC GGCCTGCAGTCAGAGGACGAGGCCGACTACTA CTGTAGCGCCTGGGATCAGCGTCAGTTCGACGT GGTGTTCGGCGGAGGCACTAAGCTGACCGTGCT G
Легкая цепь	41	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNDVS WYQQLPGTAPKLLIYKNYNRPSGVPDRFSGSKSG TSASLAISGLQSEDEADYYCSAWDQRQFDVVFVG GTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVC LISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTV EKTVAPECS
ДНК, кодирующая легкую цепь	42	CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGCGCTAGT GGCACCCCTGGTCAAAGAGTGACTATTAGCTGT AGCGGCTCTAGCTCTAATATCGGCTCTAACGAC GTCAGCTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCC CCTAAGCTGCTGATCTATAAGAACTATAATAGG CCTAGCGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGATCT AAATCAGGGACTTCTGCTAGTCTGGCTATTAGC GGCCTGCAGTCAGAGGACGAGGCCGACTACTA CTGTAGCGCCTGGGATCAGCGTCAGTTCGACGT GGTGTTCGGCGGAGGCACTAAGCTGACCGTGCT GGGTCAACCTAAGGCTGCCCCCAGCGTGACCCT GTTCCCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCA ACAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACT TCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGG CCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAG ACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACA GTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCC

		CGAGCAGTGGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGCT GCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAA AAGACCGTGGCCCCAACCGAGTGCAGC
--	--	--

[0061] В некоторых вариантах осуществления антитела к фактору XI и/или к фактору XIa, используемые в способе детекции ADA, представленном в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), содержат аминокислотную последовательность, в которой аминокислоты являются мутантными, но имеют по меньшей мере 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95 процентов идентичности в отношении последовательностей, представленных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления антитела к фактору XI и/или к фактору XIa включают мутантные аминокислотные последовательности, где не более 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот являются мутантными в варибельных области по сравнению с варибельными областями, приведенными в последовательности представленные в таблице 1, одновременно сохраняя, по существу, ту же антигенсвязывающую активность.

[0062] Т.к. каждое из этих антител может связываться с FXI и/или FXIa, последовательности VH, VL, полноразмерной легкой цепи и полноразмерной тяжелой цепи (аминокислотные последовательности и нуклеотидные последовательности, кодирующие аминокислотные последовательности) можно "смешивать и комбинировать" для получения других FXI- и/или FXIa-связывающихся антител по изобретению. Такие "смешанные и комбинированные" FXI- и/или FXIa-связывающие антитела можно тестировать с использованием анализов связывания, известных в этой области (например, ELISA и других анализов, описанных в разделе "Примеры"). Если эти цепи смешивают и комбинируют, последовательность VH из конкретной пары VH/VL необходимо заменять структурно схожей последовательностью VH. Аналогично, полноразмерную последовательность тяжелой цепи из конкретной пары полноразмерной тяжелой цепи/полноразмерной легкой цепи необходимо заменять структурно схожей последовательностью полноразмерной тяжелой цепи. Аналогично, последовательность VL из конкретной пары VH/VL необходимо заменять структурно схожей последовательностью VL. Аналогично, полноразмерную последовательность легкой цепи из конкретной пары полноразмерной тяжелой цепи/полноразмерной легкой цепи необходимо заменять структурно схожей полноразмерной последовательностью легкой цепи.

[0063] Таким образом, в случае применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов) настоящее изобретение относится к выделенному антителу или его антигенсвязывающей области, имеющей: варибельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9 и 29, и варибельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19

и 39, где антитело специфически связывается с FXI и/или FXIa (например, FXIa человека, кролика, павиана и яванского макака).

[0064] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к выделенному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, имеющему переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, содержащие аминокислотные последовательности, выбранные из SEQ ID NO: 9 и 29; или 19 и 39, соответственно, для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов.

[0065] В некоторых вариантах осуществления в случае применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в настоящем описании и специфически связывающееся с FXI и/или FXIa человека, содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19.

[0066] В некоторых вариантах осуществления в случае применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в настоящем описании и специфически связывающееся с FXI и/или FXIa человека, содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39.

[0067] В некоторых вариантах осуществления в случае применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), настоящее изобретение относится к (i) выделенному антителу, имеющему: полную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, оптимизированную для экспрессии в клетке млекопитающего, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11 или 31, и полную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, оптимизированную для экспрессии в клетке млекопитающего, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21 или 41; или (ii) функциональному белку, содержащему его антигенсвязывающую часть. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к выделенному антителу или его антигенсвязывающей области, имеющему тяжелую цепь и легкую цепь, содержащую аминокислотные последовательности, выбранные из SEQ ID NO: 11 и 31; или 21 и 41, соответственно, для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов.

[0068] В некоторых вариантах осуществления в случае применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в настоящем описании и специфически связывающееся с FXI и/или FXIa человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21.

[0069] В некоторых вариантах осуществления в случае применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в настоящем описании, специфически связывающееся с FXI и/или FXIa человека, содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41.

[0070] В рамках изобретения термины "определяющая комплементарность область" и "CDR" относятся к последовательностям аминокислот в переменных областях антитела, придающих специфичность к антигену и аффинность связывания. В основном, существует три CDR в каждой переменной области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2, HCDR3) и три CDR в каждой переменной области легкой цепи (LCDR1, LCDR2, LCDR3).

[0071] Точные границы аминокислотной последовательности указанной CDR легко можно определять с использованием любой из ряда хорошо известных схем, включая описанные Kabat *et al.* (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (схема нумерации "Kabat"), Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948 (схема нумерации "Chothia"), Lefranc *et al.*, (2003) Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (схема нумерации "IMGT") или "комбинированную" систему.

[0072] Например, по схеме Kabat аминокислотные остатки CDR антитела 2 в переменной домене тяжелой цепи (VH) пронумерованы как 31-35 (HCDR1), 50-66 (HCDR2) и 99-111 (HCDR3); и аминокислотные остатки CDR в переменной домене легкой цепи (VL) пронумерованы как 22-35 (LCDR1), 51-57 (LCDR2) и 90-100 (LCDR3). По схеме Chothia аминокислоты CDR в VH пронумерованы как 26-32 (HCDR1), 52-57 (HCDR2) и 99-111 (HCDR3); и аминокислотные остатки в VL пронумерованы как 25-33 (LCDR1), 51-53 (LCDR2), и 92-99 (LCDR3). При комбинировании определений CDR по Kabat и Chothia CDR состоят из аминокислотных остатков 26-35 (HCDR1), 50-66 (HCDR2) и 99-111 (HCDR3) в VH человека и аминокислотных остатков 22-35 (LCDR1), 51-57 (LCDR2) и 90-100 (LCDR3) в VL человека. При комбинировании определений CDR по Kabat и Chothia "комбинированные" CDR состоят из аминокислотных остатков 26-35 (HCDR1), 50-66 (HCDR2) и 99-108 (HCDR3) в VH человека и аминокислотных остатков 24-38 (LCDR1), 54-60 (LCDR2) и 93-101 (LCDR3) в VL человека. В качестве примера, по схеме IMGT аминокислотные остатки CDR в переменной домене тяжелой цепи (VH) пронумерованы

как 26-33 (HCDR1), 51-58 (HCDR2) и 97-108 (HCDR3); и аминокислотные остатки CDR в переменном домене легкой цепи (VL) пронумерованы как 27-36 (LCDR1), 54-56 (LCDR2) и 93-101 (LCDR3). В таблице 1 приведены примеры HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 по Kabat, Chothia, комбинированной системе и IMGT для антител к FXI/FXIa, например, антитела 2 и антитела 1. В другом аспекте настоящее изобретение относится к FXIa-связывающим антителам, содержащим CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и легкой цепи, как приведено в таблице 1, или их комбинации. Аминокислотные последовательности CDR1 VH антител приведены в SEQ ID NO: 3 и 23. Аминокислотные последовательности CDR2 VH антител приведены в SEQ ID NO: 4 и 24. Аминокислотные последовательности CDR3 VH антител приведены в SEQ ID NO: 5 и 25. Аминокислотные последовательности CDR1 VL антител приведены в SEQ ID NO: 13 и 33. Аминокислотные последовательности CDR2 VL антител приведены в SEQ ID NO: 14 и 34. Аминокислотные последовательности CDR3 VL антител приведены в SEQ ID NO: 15 и 35. Эти CDR области определены по системе Kabat.

[0073] Альтернативно, как определено по системе Chothia (Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948), аминокислотные последовательности CDR1 VH антител приведены в SEQ ID NO: 6 и 26. Аминокислотные последовательности CDR2 VH антител и приведены в SEQ ID NO: 7 и 27. Аминокислотные последовательности CDR3 VH антител приведены в SEQ ID NO: 8 и 28. Аминокислотные последовательности CDR1 VL антител приведены в SEQ ID NO: 16 и 36. Аминокислотные последовательности CDR2 VL антител приведены в SEQ ID NO: 17 и 37. Аминокислотные последовательности CDR3 VL антител приведены в SEQ ID NO: 18 и 38.

[0074] Альтернативно, как определено по комбинированной системе, аминокислотные последовательности VH CDR1 антител приведены в SEQ ID NO: 46. Аминокислотные последовательности VH CDR2 антител и приведены в SEQ ID NO: 4. Аминокислотные последовательности VH CDR3 антител приведены в SEQ ID NO: 5. аминокислотные последовательности CDR1 VL антител приведены в SEQ ID NO: 33. Аминокислотные последовательности CDR2 VL антител приведены в SEQ ID NO: 14. Аминокислотные последовательности CDR3 VL антител приведены в SEQ ID NO: 15.

[0075] Альтернативно, как определено по схеме нумерации IMGT, аминокислотные последовательности VH CDR1 антител приведены в SEQ ID NO: 43. Аминокислотные последовательности VH CDR2 антител и приведены в SEQ ID NO: 44. Аминокислотные последовательности VH CDR3 антител приведены в SEQ ID NO: 45. Аминокислотные последовательности CDR1 VL антител приведены в SEQ ID NO: 47. Аминокислотные последовательности CDR2 VL антител приведены в SEQ ID NO: 37. Аминокислотные последовательности CDR3 VL антител приведены в SEQ ID NO: 15.

[0076] Учитывая, что каждое из этих антител может связываться с FXI и/или FXIa, и что специфичность связывания антигена обеспечивается, главным образом, областями CDR1, 2 и 3, последовательности CDR1, 2 и 3 VH и CDR1, последовательности 2 и 3 VL можно "смешивать и комбинировать" (т.е. CDR из разных антител можно смешивать и

комбинировать), хотя каждое антитело, предпочтительно, содержит CDR1, 2 и 3 VH и CDR1, 2 и 3 VL для образования других FXI- и/или FXIa-связывающих молекул по изобретению. Такие "смешанные и комбинированные" FXI- и/или FXIa-связывающие антитела можно тестировать с использованием анализов связывания, известных в этой области и описанных в примерах (например, анализах ELISA, SET, BIACORE™). Когда последовательности CDR VH смешивают и комбинируют, последовательность CDR1, CDR2 и/или CDR3 из конкретной последовательности VH необходимо заменять структурно схожими последовательностями CDR. Аналогично, когда последовательности CDR VL смешивают и комбинируют, последовательность CDR1, CDR2 и/или CDR3 из конкретной последовательности VL необходимо заменять структурно схожими последовательностями CDR. Специалистам в этой области, как правило, будет очевидно, что новые последовательности VH и VL можно получать посредством замены одной или более последовательностей областей CDR VH и/или VL со структурно схожими последовательностями из последовательностей CDR, приведенных в настоящем описании для моноклональных антител по изобретению. В дополнение к изложенному выше, в одном из вариантов осуществления антигенсвязывающие фрагменты антител, представленных в настоящем описании, могут содержать CDR1, 2 и 3 VH или CDR 1, 2 и 3 VL, где фрагмент связывается с FXI и/или FXIa в качестве единого переменного домена. Необходимо отметить, что последовательности CDR антитела 1 и антитела 2 идентичны.

[0077] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела или их антигенсвязывающие фрагменты для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов могут иметь последовательности тяжелых и легких цепей Fab, представленных в таблице 1. Более конкретно, антитело или его антигенсвязывающие фрагменты могут иметь последовательность тяжелых и легких цепей антитела 2 и антитела 1.

[0078] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, специфически связывающихся с FXI и/или FXIa, содержит CDR1 переменной области тяжелой цепи, CDR2 переменной области тяжелой цепи, CDR3 переменной области тяжелой цепи, CDR1 переменной области легкой цепи, CDR2 переменной области легкой цепи и CDR3 переменной области легкой цепи, как определено Kabat и представлено в таблице 1. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, специфически связывающихся с FXI и/или FXIa, содержит CDR1 переменной области тяжелой цепи, CDR2 переменной области тяжелой цепи, CDR3 переменной области тяжелой цепи, CDR1 переменной области легкой цепи, CDR2 переменной области легкой цепи и CDR3 переменной области легкой цепи, как определено Chothia и представлено в таблице 1. В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент для

применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, специфически связывающихся с FXI и/или FXIa, содержит CDR1 варибельной области тяжелой цепи, CDR2 варибельной области тяжелой цепи, CDR3 варибельной области тяжелой цепи, CDR1 варибельной области легкой цепи, CDR2 варибельной области легкой цепи и CDR3 варибельной области легкой цепи, как определено по комбинированной системе и представлено в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, специфически связывающихся с FXI и/или FXIa, содержит CDR1 варибельной области тяжелой цепи, CDR2 варибельной области тяжелой цепи, CDR3 варибельной области тяжелой цепи, CDR1 варибельной области легкой цепи, CDR2 варибельной области легкой цепи и CDR3 варибельной области легкой цепи, как определено по IMGT и представлено в таблице 1.

[0079] В некоторых вариантах осуществления в случае применения в способах, представленных в настоящем описании (например, в случае применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), настоящее изобретение включает антитело, специфически связывающееся с FXI и/или FXIa содержащее CDR1 варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 3; CDR2 варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 4; CDR3 варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 5; CDR1 варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 13; CDR2 варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 14 и CDR3 варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 15.

[0080] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение включает антитело, специфически связывающееся с FXI и/или FXIa и содержащее CDR1 варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23; CDR2 варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 24; CDR3 варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 25; CDR1 варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 33; CDR2 варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 34 и CDR3 варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 35, для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов.

[0081] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение включает антитело, специфически связывающееся с FXI и/или FXIa, содержащее CDR1 варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 6; CDR2 варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 7; CDR3 варибельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 8; CDR1 варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 16; CDR2 варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 17 и CDR3 варибельной области легкой цепи SEQ ID NO: 18, для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов.

[0082] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение включает антитело, специфически связывающееся с FXI и/или FXIa и содержащее CDR1

вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 26; CDR2 вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 27; CDR3 вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 28; CDR1 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 36; CDR2 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 37 и CDR3 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 38, для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов.

[0083] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителу, специфически связывающемуся с FXI и/или FXIa и содержащему CDR1 вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43; CDR2 вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 44; CDR3 вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 45; CDR1 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 47; CDR2 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 37 и CDR3 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 15, для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов.

[0084] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителу, специфически связывающемуся с FXI и/или FXIa и содержащему CDR1 вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 46; CDR2 вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 4; CDR3 вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 5; CDR1 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 33; CDR2 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 14 и CDR3 вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO: 15, для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов.

[0085] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение включает антитела или антигенсвязывающие фрагменты, специфически связывающиеся с FXI и/или FXIa, как представлено в таблице 1, для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов. В конкретном варианте осуществления для применения в способах, представленных в настоящем описании, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, связывающееся с FXI и/или FXIa, является антителом 2 и антителом 1 для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов.

[0086] В рамках изобретения антитело человека содержит вариабельные области тяжелой или легкой цепи или полноразмерные тяжелые или легкие цепи, являющиеся "продуктом" или "полученные из" конкретной последовательности зародышевой линии, если вариабельные области или полноразмерный цепи антитела получены из системы, в которой используют гены иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Такие системы включают иммунизацию трансгенной мыши, несущей гены иммуноглобулинов человека, интересующим антигеном или скрининг библиотеки генов иммуноглобулина человека, экспонируемой на фаге, с помощью интересующего антигена. Антитело человека, являющееся "продуктом" или "полученное из" последовательности иммуноглобулина зародышевой линии человека можно идентифицировать, по существу, посредством

сравнения аминокислотной последовательности антитела человека с аминокислотными последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии человека и выбора последовательности иммуноглобулина зародышевой линии человека, наиболее близкой по последовательности (т.е. с самым высоким % идентичности) к последовательности антитела человека.

[0087] Антитело человека, являющееся "продуктом" или "полученное из" конкретной последовательности иммуноглобулина зародышевой линии человека, может содержать отличия аминокислот по сравнению с последовательностью зародышевой линии по причине, например, природных соматических мутаций или преднамеренного встраивания сайт-специфических мутаций. Однако, в каркасных областях VH или VL выбранное антитело человека, как правило, является по меньшей мере 90% идентичным по аминокислотной последовательности в отношении аминокислотной последовательности, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии человека и содержащие аминокислотные остатки, определяющие антитело человека как принадлежащие человеку по сравнению с аминокислотными последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии других видов (например, последовательностями зародышевой линии мыши). В некоторых случаях антитело человека может являться по меньшей мере на 60%, 70%, 80%, 90%, или по меньшей мере на 95%, или даже по меньшей мере на 96%, 97%, 98% или 99% идентичным по аминокислотной последовательности в отношении аминокислотной последовательности, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии.

[0088] Как правило, рекомбинантное антитело человека будет демонстрировать не более 10 отличий аминокислот от аминокислотной последовательности, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии человека в каркасных областях VH или VL. В некоторых случаях антитело человека может демонстрировать не более 5, или даже не более 4, 3, 2 или 1 отличия аминокислоты от аминокислотной последовательности, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии. Неограничивающие примеры генов иммуноглобулинов зародышевой линии человека включают фрагменты переменного домена зародышевой линии, описанные ниже, а также DP47 и DPK9.

#### **Гомологичные антитела**

[0089] В других вариантах осуществления в случае применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), настоящее изобретение относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему аминокислотные последовательности, гомологичные последовательностям, представленным в таблице 1 (например, SEQ ID NO: 29, 31, 39 или 41), и антитело связывается с белком FXI и/или FXIa (например, FXIa человека, кролика, павиана и яванского макака) и сохраняет желаемые функциональные свойства антител, представленных в таблице 1, таких как антитело 2 и антитело 1. В некоторых вариантах осуществления такие гомологичные антитела сохраняют аминокислотные

последовательности CDR, представленные в таблице 1 (например, CDR по Kabat, CDR по Chothia, CDR по IMGT или CDR по комбинированной системе).

[0090] Например, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к выделенному антителу или его функциональному антигенсвязывающему фрагменту, содержащему вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичной аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9 и 29; вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичной аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19 и 39; и антитело специфически связывается с FXI и/или FXIa (например, FXIa человека, кролика, павиана и яванского макака), для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или его функциональный антигенсвязывающий фрагмент, содержит вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9; вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 19; и антитело специфически связывается с FXI и/или FXIa (например, FXIa человека, кролика, павиана и яванского макака), для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или его функциональный антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, где вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 29; вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 39; и антитело специфически связывается с FXI и/или FXIa (например, FXIa человека, кролика, павиана и яванского макака), для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов. В некоторых вариантах осуществления изобретения последовательности тяжелой и легкой цепи антитела для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов содержат последовательности HCDR1, HCDR2,

HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, как определено по Kabat, например, SEQ ID NO: 3, 4, 5, 13, 14 и 15, соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения последовательности тяжелой и легкой цепи антитела для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов содержат последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, как определено по Chothia, например, SEQ ID NO: 6, 7, 8, 16, 17 и 18, соответственно. В некоторых вариантах осуществления последовательности тяжелой и легкой цепи антитела для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов содержат последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, как определено по комбинированной системе, например, SEQ ID NO: 46, 4, 5, 33, 14 и 15, соответственно. В некоторых вариантах осуществления последовательности тяжелой и легкой цепи антитела для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов содержат последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, как определено по IMGT, например, SEQ ID NO: 43, 44, 45, 47, 37 и 15, соответственно.

[0091] В других вариантах осуществления для применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), аминокислотные последовательности VH и/или VL антитела к фактору XI и/или к фактору XIa могут являться на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичными последовательностям, приведенным в таблице 1. В других вариантах осуществления аминокислотные последовательности VH и/или VL могут являться идентичными, за исключением замены аминокислоты не более чем в 1, 2, 3, 4 или 5 положениях аминокислот. Антитело, содержащее области VH и VL, имеющие высокую (например, 80% или более) идентичность в отношении областей VH и VL антител, представленных в таблице 1, можно получать посредством мутагенеза (например, сайт-специфического или ПЦР-опосредованного мутагенеза) молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих SEQ ID NO: 10 или 30 и SEQ ID NO: 20 и 40, соответственно, с последующим тестированием кодируемого измененного антитела на сохраненную функцию с использованием функциональных анализов, представленных в настоящем описании.

[0092] В других вариантах осуществления в случае применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), аминокислотные последовательности полноразмерной тяжелой цепи и/или полноразмерной легкой цепи антитела к фактору XI и/или к фактору XIa могут являться на 50% 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичными последовательностям, приведенным в таблице 1 (например, SEQ ID NO: 11 и/или 21 или 31 и/или 41). Антитело, содержащее полноразмерную тяжелую цепь и полноразмерную легкую цепь, имеющую высокую (например, 80% или более) идентичность в отношении

полноразмерных тяжелых цепей любой из SEQ ID NO: 11 или 31 и полноразмерных легких цепей любой из SEQ ID NO: 21 или 41, можно получать посредством мутагенеза (например, сайт-специфического или ПЦР-опосредованного мутагенеза) молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих такие полипептиды, с последующим тестированием кодируемого измененного антитела на сохраненную функцию с использованием функциональных анализов, представленных в настоящем описании.

[0093] В одном из аспектов настоящее изобретение относится к выделенному антителу или его функциональному антигенсвязывающему фрагменту для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, содержащему тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичной аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11 и 31; легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичной аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21 и 41; и антитело специфически связывается с FXI и/или FXIa (например, FXIa человека, кролика, павлина и яванского макака). В одном из вариантов осуществления выделенное антитело или его функциональный антигенсвязывающий фрагмент для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов содержит тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11; легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21; и антитело специфически связывается с FXI и/или FXIa (например, FXIa человека, кролика, павлина и яванского макака). В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело или его функциональный антигенсвязывающий фрагмент для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов содержит тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 31; легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, являющуюся по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 41; и антитело специфически связывается с FXI и/или FXIa (например, FXIa человека, кролика, павлина и яванского макака). В определенных аспектах по изобретению последовательности тяжелой и легкой цепи дополнительно содержат последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, как определено по Kabat, например SEQ ID NO: 3, 4, 5, 13, 14 и 15, соответственно. В некоторых вариантах осуществления

изобретения последовательности тяжелой и легкой цепи антитела или его функционального антигенсвязывающего фрагмента для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, содержат последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, как определено по Chothia, например SEQ ID NO: 6, 7, 8, 16, 17 и 18, соответственно. В некоторых вариантах осуществления последовательности тяжелой и легкой цепи антитела или его функционального антигенсвязывающего фрагмента для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, содержат последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, как определено по комбинированной системе, например, SEQ ID NO: 46, 4, 5, 33, 14 и 15, соответственно. В некоторых вариантах осуществления последовательности тяжелой и легкой цепи антитела или его функционального антигенсвязывающего фрагмента для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов содержат последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, как определено по IMGT, например, SEQ ID NO: 43, 44, 45, 47, 37 и 15, соответственно.

[0094] В других вариантах осуществления в случае применения в способах, представленных в настоящем описании, нуклеотидные последовательности полноразмерной тяжелой цепи и/или полноразмерной легкой цепи могут являться на 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичными последовательностям, приведенным в таблице 1 (например, SEQ ID NO: 12 и/или 22 или 32 и/или 42).

[0095] В других вариантах осуществления в случае применения в способах, представленных в настоящем описании, нуклеотидные последовательности переменных областей тяжелой цепи и/или переменных областей легкой цепи могут являться на 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичными последовательностям, приведенным в таблице 1 (например, SEQ ID NO: 10 и/или 20 или 30 и/или 40).

[0096] В рамках изобретения процент идентичности между двумя последовательностями является функцией количества идентичных положений, общих для последовательностей (т.е.  $\% \text{ идентичности} = \frac{\text{количество идентичных положений}}{\text{общее количество положений}} \times 100$ ), с учетом количества пропусков и длины каждого пропуска, который необходимо встроить для оптимального выравнивания двух последовательностей. Сравнение последовательностей и определение процента идентичности между двумя последовательностями можно осуществлять с использованием математического алгоритма, как описано в неограничивающих примерах ниже.

[0097] Выделенные антитела к FXI и/или FXIa или их антигенсвязывающие фрагменты, как представлено в настоящем описании, могут являться моноклональными антителами, человеческими или гуманизированными антителами, химерными антителами, одноцепочечными антителами, Fab-фрагментами, Fv-фрагментами, F(ab')<sub>2</sub>-фрагментами или scFv-фрагментами и/или изотипами IgG (например, IgG1, таким как IgG1 человека). В конкретных вариантах осуществления антитела к FXI и/или FXIa, представленные в

настоящем описании, являются рекомбинантными антителами человека. В конкретных вариантах осуществления антитела к FXI и/или к FXIa, представленные в настоящем описании являются антителами IgG1/лямбда ( $\lambda$ ) человека. В конкретных вариантах осуществления антитела к FXI и/или к FXIa, представленные в настоящем описании, являются антителами IgG1/лямбда ( $\lambda$ ) человека, содержащими Fc-домен, сконструированный для снижения потенциала для эффекторной функции (например, ADCC и/или CDC), например, Fc-домен человека, содержащий замены D265A и/или P329A.

[0098] Дополнительно или альтернативно, белковые последовательности по изобретению дополнительно можно использовать в качестве "поисковой последовательности" для осуществления поиска в общедоступных базах данных, например, для идентификации родственных последовательностей. Например, такие поиски можно осуществлять с использованием программы BLAST (версии 2.0) по Altschul, *et al.*, 1990 *J. Mol. Biol.* 215:403-10.

#### **Антитела с консервативными модификациями**

[0099] В некоторых других вариантах осуществления антитело по изобретению для применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), имеет переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательности CDR1, CDR2, и CDR3, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, где одна или более из этих последовательностей CDR имеют определенные аминокислотные последовательности на основе антител, представленных в настоящем описании, или их консервативных модификаций, где антитела сохраняют желаемые функциональные свойства FXIa-связывающих антител по изобретению.

[0100] Таким образом, в случае применения в способах, представленных в настоящем описании, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к выделенному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, состоящему из переменной области тяжелой цепи, содержащей последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, и переменной области легкой цепи, содержащей последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, где: аминокислотные последовательности CDR1 переменной области тяжелой цепи выбраны из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3 и 23 и их консервативных модификаций; аминокислотные последовательности CDR2 переменной области тяжелой цепи выбраны из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4 и 24 и их консервативных модификаций; аминокислотные последовательности CDR3 переменной области тяжелой цепи выбраны из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5 и 25 и их консервативных модификаций; аминокислотные последовательности CDR1 переменной области легкой цепи выбраны из группы, состоящей из SEQ ID NO: 13 и 33 и их консервативных модификаций; аминокислотные последовательности CDR2 переменных областей легкой цепи выбраны из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14 и 34 и их консервативных модификаций; аминокислотные последовательности CDR3 переменных областей легкой

цепи выбраны из группы, состоящей из SEQ ID NO: 15 и 35 и их консервативных модификаций; и антитело или его антигенсвязывающие фрагменты специфически связываются с FXIa.

[0101] В одном из аспектов настоящее изобретение относится к выделенному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, состоящему из вариабельной области тяжелой цепи, содержащей последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, и вариабельной области легкой цепи, содержащей последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, где: аминокислотные последовательности CDR1 вариабельной области тяжелой цепи выбраны из группы, состоящей из последовательностей, представленных в таблице 1, и их консервативных модификаций; аминокислотные последовательности CDR2 вариабельной области тяжелой цепи выбраны из группы, состоящей из последовательностей, представленных в таблице 1, и их консервативных модификаций; аминокислотные последовательности CDR3 вариабельной области тяжелой цепи выбраны из группы, состоящей из последовательностей, представленных в таблице 1, и их консервативных модификаций; легкая цепь вариабельные области CDR1 аминокислотные последовательности выбраны из группы, состоящей из последовательностей, представленных в таблице 1, и их консервативных модификаций; легкая цепь вариабельные области CDR2 аминокислотные последовательности выбраны из группы, состоящей из последовательностей, представленных в таблице 1, и их консервативных модификаций; аминокислотные последовательности CDR3 вариабельной области легкой цепи выбраны из группы, состоящей из последовательностей, представленных в таблице 1, и их консервативных модификаций; и антитело или его антигенсвязывающие фрагменты специфически связываются с FXIa.

[0102] В других вариантах осуществления в случае применения в способах, представленных в настоящем описании, антитело по изобретению, оптимизированное для экспрессии в клетке млекопитающего, имеет последовательность полноразмерной тяжелой цепи и последовательность полноразмерной легкой цепи, где одна или более из этих последовательностей имеет определенные аминокислотные последовательности на основе антител, представленных в настоящем описании, или их консервативных модификаций, и где антитела сохраняют желаемые функциональные свойства связывания FXIa антителами по изобретению. Таким образом, настоящее изобретение относится к выделенному антителу, оптимизированному для экспрессии в клетке млекопитающего, состоящему из полноразмерной тяжелой цепи и полноразмерной легкой цепи, где полноразмерная тяжелая цепь имеет аминокислотные последовательности, выбранные из группы SEQ ID NO: 11 или 31, и их консервативные модификации; и полноразмерная легкая цепь имеет аминокислотные последовательности, выбранные из группы SEQ ID NO: 21 или 41, и их консервативные модификации; и антитело специфически связывается с FXI и/или FXIa (например, FXIa человека, кролика, павиана и яванского макака).

**Антитела, связывающиеся с одним и тем же эпитопом**

[0103] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителам, конкурирующим за один и тот же эпитоп, что и FXI- и/или FXIa-связывающие антитела, представленные в таблице 1, для применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов). Таким образом, можно идентифицировать дополнительные антитела с учетом их способности конкурировать (например, статистически значимо, конкурентно ингибировать связывание посредством связывания с тем же или перекрывающимся эпитопом) с другими антителами по изобретению в анализах связывания FXI и/или FXIa. Способность тестового антитела ингибировать связывание антител по изобретению с белком FXI и/или FXIa свидетельствует о том, что тестовое антитело может конкурировать с этим антителом за связывание с FXI и/или FXIa; в соответствии с неограничивающей теорией такое антитело может связываться с тем же или родственным (например, структурно схожим или пространственно проксимальным) эпитопом на белке FXI и/или FXIa, что и антитело, с которым оно конкурирует. В некотором варианте осуществления антитело, связывающееся с тем же эпитопом на FXI и/или FXIa, что и антитела по изобретению, является моноклональным антителом человека. Такие моноклональные антитела человека можно получать и выделять, как представлено в настоящем описании.

[0104] В рамках изобретения антитело "конкурирует" за связывание, если конкурирующее антитело связывается с тем же эпитопом FXI и/или FXIa, что и антитело или антигенсвязывающий фрагмент по изобретению (например, антитело 1 или антитело 2), и ингибирует связывание FXI и/или FXIa антителом или антигенсвязывающим фрагментом по изобретению более чем на 50% (например, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%) в присутствии эквимолярной концентрации конкурирующего антитела. Это можно определять, например, в анализе конкурентного связывания, любыми из способов, хорошо известных специалистам в этой области.

[0105] В рамках изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не "конкурирует" с антителом FXI и/или FXIa или антигенсвязывающий фрагмент по изобретению (например, антитело 1 или антитело 2), если указанное конкурирующее антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с тем же эпитопом FXI и/или FXIa или перекрывающимся эпитопом FXI и/или FXIa, что и антитело или антигенсвязывающий фрагмент по изобретению. В рамках изобретения конкурирующее антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не включает антитело, (i) стерически блокирующее антитело или антигенсвязывающий фрагмент по изобретению при связывании с его мишенью (например, если указанное конкурирующее антитело связывается с близкорасположенным, неперекрывающимся эпитопом FXI и/или FXIa и физически предотвращает связывание антитела или антигенсвязывающего фрагмента по изобретению с его мишенью); и/или (ii) связывающееся с иным, неперекрывающимся эпитопом FXI и/или FXIa и индуцирующее конформационное изменение с белком FXI и/или FXIa таким образом, что указанные белок больше не может связываться с антителом

к FXI и/или к FXIa или антигенсвязывающим фрагментом по изобретению так, как это происходило бы в отсутствие указанного конформационного изменения.

### **Сконструированные и модифицированные антитела**

[0106] В некоторых вариантах осуществления антитело по изобретению для применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ап ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), дополнительно можно получать с использованием антитела, имеющего одну или более из последовательностей VH и/или VL, приведенных в настоящем описании, в качестве исходного материала для конструирования модифицированного антитела, где модифицированное антитело может иметь измененные свойства относительно исходного антитела. Антитело можно конструировать посредством модификации одного или более остатков с одной или обеих переменных областей (т.е. VH и/или VL), например, в одной или более областях CDR и/или в одной или более каркасных областях. Дополнительно или альтернативно, антитело можно конструировать посредством модификации остатков в константных областях, например, для изменения эффекторных функций антитела.

[0107] Одним из типов конструирования переменных областей, которые можно осуществлять, является пересадка CDR. Антитела взаимодействуют с антигенами-мишенями, преимущественно, через аминокислотные остатки, локализованные в шести определяющих комплементарность областях (CDR) тяжелой и легкой цепи. По этой причине, аминокислотные последовательности в CDR являются более разнообразными между отдельными антителами, чем последовательности вне CDR. Т.к. последовательности CDR отвечают за большинство взаимодействий антитело-антиген, их можно экспрессировать рекомбинантные антитела, имитирующие свойства конкретных природных антител посредством конструирования экспрессирующих векторов, включающих последовательности CDR из конкретного природного антитела, пересаженные на каркасные последовательности из другого антитела с другими свойствами (см., например, Riechmann, L. *et al.*, 1998 *Nature* 332:323-327; Jones, P. *et al.*, 1986 *Nature* 321:522-525; Queen, C. *et al.*, 1989 *Proc. Natl. Acad.*, U.S.A. 86:10029-10033; патент США № 5225539 Winter и патенты США №№ 5530101; 5585089; 5693762 и 6180370 Queen *et al.*).

[0108] Таким образом, другой вариант осуществления изобретения относится к выделенному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов, содержащих переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательности CDR1, имеющие аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3 и 23; последовательности CDR2, имеющие аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4 и 24; последовательности CDR3, имеющие аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5 и 25, соответственно; и переменную область легкой цепи, имеющую последовательности CDR1, имеющие аминокислотную

последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 13 и 33; последовательности CDR2, имеющие аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14 и 34; и последовательности CDR3, состоящие из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 15 и 35, соответственно. Таким образом, такие антитела содержат последовательности CDR VH и VL моноклональных антител, но могут содержать иные каркасные последовательности из этих антител.

[0109] Такие каркасные последовательности можно получать из общедоступных баз данных ДНК или опубликованных ссылок, включающих последовательности гена антитела зародышевой линии. Например, последовательности ДНК зародышевой линии генов варибельной области тяжелой и легкой цепи человека можно найти в базе данных последовательностей зародышевой линии человека "VBase", а также Kabat, E. A., *et al.*, 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson, I. M., *et al.*, 1992 *J. Mol. Biol.* 227:776-798; и Cox, J. P. L. *et al.*, 1994 *Eur. J Immunol.* 24:827-836, содержание каждой из которых конкретно включено в настоящее описание в качестве ссылки.

[0110] Примерами каркасных последовательностей для использования в антителах по изобретению являются те, которые структурно схожи с каркасными последовательностями, используемыми в выбранных антителах по изобретению, например, консенсусными последовательностями и/или каркасными последовательностями, используемыми в моноклональных антителах по изобретению. Последовательности CDR1, 2 и 3 VH и последовательности CDR1, 2 и 3 VL можно пересаживать на каркасные области, имеющие идентичную последовательность с той, которую обнаруживают в гене иммуноглобулина зародышевой линии, из которого получают каркасную последовательность, или последовательности CDR можно пересаживать на каркасные области, содержащие одну или более мутаций по сравнению с последовательностями зародышевой линии. Например, обнаружено, что в некоторых случаях полезно подвергать мутагенезу остатки в каркасных областях для поддержания или повышения антигенсвязывающей способности антитела (см., например, патенты США №№ 5530101; 5585089; 5693762 и 6180370 Queen *et al.*). Каркасы, которые можно использовать в качестве каркасов, на которых строят антитела и антигенсвязывающие фрагменты, представленные в настоящем описании, включают, в качестве неограничивающих примеров, VH1A, VH1B, VH3, Vk1, V12 и Vk2.

[0111] Таким образом, в случае применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), другой вариант осуществления настоящего изобретения относится к выделенным FXIa-связывающим антителам или их антигенсвязывающим фрагментам, содержащим варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9 и 29, или аминокислотную последовательность, имеющую одну, две, три,

четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот в каркасной области таких последовательностей и дополнительно содержащую вариабельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19 или 39, или аминокислотную последовательность, имеющую одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот в каркасной области таких последовательностей.

[0112] Другим типом модификации вариабельной области является мутация аминокислотных остатков в областях CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH и/или VL для улучшения одного или более свойства связывания (например, аффинность) интересующего антитела, известного как "созревание аффинности". Можно осуществлять сайт-специфический мутагенез или ПЦР-опосредованный мутагенез для встраивания мутаций и эффект в отношении связывания антитела или другого интересующего функционального свойства можно оценивать в анализах *in vitro* или *in vivo*, как представлено в настоящем описании и описано в разделе "Примеры". Можно встраивать консервативные модификации (как указано выше). Мутации могут являться замены, добавления или делеции аминокислот. Кроме того, как правило, изменяют не более одного, двух, трех, четырех или пяти остатков в области CDR.

[0113] Таким образом, в другом варианте осуществления в случае применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), настоящее изобретение относится к выделенным FXIa-связывающим антителам или их антигенсвязывающим фрагментам, состоящим из вариабельной области тяжелой цепи, имеющей область CDR1 VH, состоящую из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, имеющей SEQ ID NO: 3 и 23, или аминокислотной последовательности, имеющей одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 3 и 23; область CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4 и 24, или аминокислотную последовательность, имеющую одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 4 и 24; область CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5 и 25, или аминокислотную последовательность, имеющую одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 5 и 25; область CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 13 и 33, или аминокислотную последовательность, имеющую одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 13 и 33; область CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14 и 34, или аминокислотную последовательность, имеющую одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 14 и 34; и область CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы,

состоящей из SEQ ID NO: 15 и 35, или аминокислотную последовательность, имеющую одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 15 и 35.

[0114] Таким образом, в другом варианте осуществления для применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), настоящее изобретение относится к выделенным FXIa-связывающим антителам или их антигенсвязывающим фрагментам, состоящим из вариабельной области тяжелой цепи, имеющей область CDR1 VH, состоящую из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, имеющей SEQ ID NO: 6 и 26, или аминокислотной последовательности, имеющей одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 6 и 26; область CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7 и 27, или аминокислотную последовательность, имеющую одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 7 и 27; область CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8 и 28, или аминокислотную последовательность, имеющую одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 8 и 28; область CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 16 и 36, или аминокислотную последовательность, имеющую одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 16 и 36; область CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17 и 37, или аминокислотную последовательность, имеющую одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 17 и 37; и область CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 18 и 38, или аминокислотную последовательность, имеющую одну, две, три, четыре или пять замен, делеций или добавлений аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 18 и 38.

#### **Антитела с увеличенным временем полужизни**

[0115] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителам, специфически связывающимся с белком FXIa, имеющим увеличенное время полужизни *in vivo*, для применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов). Антитело к фактору XI и/или к фактору XIa, имеющее увеличенное время полужизни, можно использовать в способе детекции ADA, если антитело к фактору XI и/или к фактору XIa используют в способе лечения пациента, и, таким образом, физиологическая и клиническая корреляция коррелирует со способом ADA, и терапевтическое антитело к фактору XI и/или к фактору XIa полезно для лечения или поддерживающей терапии заболевания или нарушения у пациента.

[0116] Множество факторов может влиять на время полужизни белка *in vivo*. Например, почечная фильтрация, метаболизм в печени, деградация протеолитическими ферментами (протеазами) и иммуногенные ответы (например, нейтрализация белков антителами и захват макрофагами и дендритными клетками). Можно использовать ряд стратегий для увеличения времени полужизни антител по изобретению. Например, посредством химического связывания с полиэтиленгликолем (ПЭГ), ПЭГ reCODE, каркасом антитела, полисиаловой кислотой (PSA), гидроксиптикрахмалом (HES), альбумин-связывающими лигандами и блокаторами углеводов; посредством генетического слияния с белками, связывающимися с белками сыворотки, такими как альбумин, IgG, FcRn и трансферрин; посредством сопряжения (генетически или химически) с другими связывающимися молекулами, связывающимися с белками сыворотки, такими как нанотела, Fab, DARPIn, авимеры, аффитела и антикарины; посредством генетического слияния с rPEG, альбумином, доменом альбумина, альбумин-связывающими белками и Fc; или посредством включения в наноносители, составы с медленным высвобождением или медицинские устройства.

[0117] Для пролонгирования циркуляции антител в сыворотке *in vivo* к антителам или их фрагмент можно присоединять инертные полимерные молекулы, такие как высокомолекулярный ПЭГ, с мультифункциональным линкером или без него посредством сайт-специфической конъюгации ПЭГ с N- или C-концом антител или через эписилона-аминогруппы, находящиеся на остатках лизина. Для пегилирования антитела, антитело или его фрагмент, как правило, подвергают реакции с полиэтиленгликолем (ПЭГ), таким как реакционноспособное сложноэфирное или альдегидное производное ПЭГ, в условиях, в которых одна или более групп ПЭГ присоединяется к антителу или фрагменту антитела. Пегилирование можно осуществлять с помощью реакции ацилирования или реакции алкилирования с реакционноспособной молекулой ПЭГ (или аналогичным реакционноспособным водорастворимым полимером). В рамках изобретения термин "полиэтиленгликоль" предназначен для включения любых форм ПЭГ, используемых для дериватизации других белков, таких как моно- (C1-C10), алкокси-, или арилокси-полиэтиленгликоль или полиэтиленгликоль-малеимид. В некоторых вариантах осуществления антитело, подлежащее пегилированию, является агликозильированным антителом. Будут использовать дериватизацию линейного или разветвленного полимера, приводящую к минимальной утрате биологической активности. Степень конъюгации можно подвергать тщательному мониторингу посредством электрофореза в ПААГ с SDS и масс-спектрометрии для обеспечения правильной конъюгации молекул ПЭГ с антителами. Непрореагировавший ПЭГ можно извлекать из конъюгатов антитело-ПЭГ посредством эксклюзионной или ионообменной хроматографии. Дериватизированные ПЭГ антитела можно тестировать на связывающую активность, а также эффективность *in vivo* с использованием способов, хорошо известных специалистам в этой области, например, с помощью иммунологических анализов, представленных в настоящем описании. Способы

пегилирования белков известны в этой области, и их можно использовать для антител по изобретению. См., например, EP 0 154 316 Nishimura *et al.* и EP 0 401 384 Ishikawa *et al.*

[0118] Другие технологии модифицированного пегилирования включают технологию восстановительной химически ортогонально направленной инженерии (ReCODE ПЭГ), с помощью которой химически определенные боковые цепи встраивают в биосинтетические белки с помощью восстановительной системы, включающей тРНК-синтетазу и тРНК. Эта технология делает возможным встраивание более чем 30 новых аминокислот в биосинтетические белки в *E. coli*, дрожжи и клетки млекопитающих. тРНК встраивает ненативную аминокислоту в любое место, в котором расположен терминирующий кодон, превращая терминирующий кодон из стоп-кодона в кодон, сигнализирующий о встраивании химически определенной аминокислоты.

[0119] Для увеличения времени полужизни в сыворотке также можно использовать технологию рекомбинантного пегилирования (rPEG). Эта технология включает генетическое слияние неструктурированного белкового хвоста из 300-600 аминокислот с существующим фармацевтическим белком. Т.к. кажущаяся молекулярная масса такой неструктурированной белковой цепи в приблизительно 15 раз больше точной молекулярной массы, время полужизни белка в сыворотке значительно повышено. В отличие от общепринятого пегилирования, для которого необходима химическая конъюгация и вторичная очистка, способ производства значительно упрощен, и продукт является гомогенным.

[0120] Полисиалирование является другой технологией, в которой используют природный полимер полисиаловую кислоту (PSA) для увеличения срока действия и улучшения стабильности терапевтических пептидов и белков. PSA является полимером сиаловой кислоты (сахара). При использовании для доставки белкового и терапевтического пептидного лекарственного средства полисиаловая кислота обеспечивает защитное микроокружение при конъюгации. Это повышает срок действия терапевтического белка в кровотоке и превращает его распознавание иммунной системой. Полимер PSA естественным образом обнаруживают в организме человека. Он адаптирован некоторыми бактериями, эволюционировавшими в течение миллионов лет, для покрытия их стенок. Затем, благодаря молекулярной мимикрии, эти естественным образом полисиалированные бактерии были способны преодолеть защитную систему организма. PSA, превосходную природную технологию "стелс", легко можно получать из таких бактерий в больших количествах и с заранее определенными физическими характеристиками. Бактериальная PSA является полностью неиммуногенной, даже при связывании с белками, т.к. она химически идентична PSA в организме человека.

[0121] Другая технология включает использование производных гидроксипропилкрахмала ("HES"), связанных с антителами. HES является модифицированным природным полимером, полученным из крахмала восковидной кукурузы, он может метаболизироваться ферментами организма. Растворы HES, как правило, вводят для замещения недостающего объема крови и улучшения реологических

свойств крови. Гесилирование антитела позволяет увеличивать время полужизни в кровотоке посредством повышения стабильности молекулы, а также посредством снижения почечного клиренса, что приводит к повышенной биологической активности. Варьируя разные параметры, такие как молекулярная масса HES, можно адаптировать широкий спектр конъюгатов HES-антитело.

[0122] Антитела, имеющие повышенное время полужизни *in vivo*, также можно получать посредством одной или более модификаций аминокислот (т.е. замен, инсерций или делеций) в константный домен IgG или его FcRn-связывающий фрагмент (предпочтительно, Fc или фрагмент шарнирная область-Fc-домен). См., например, международную публикацию № WO 98/23289, международную публикацию № WO 97/34631 и патент США № 6277375.

[0123] Кроме того, антитела можно конъюгировать с альбумином (например, сывороточным альбумином человека; HSA), чтобы сделать антитело или фрагмент антитела более стабильным *in vivo*, или чтобы он имел большее время полужизни *in vivo*. Способы хорошо известны в этой области, см., например, международные публикации № WO 93/15199, WO 93/15200 и WO 01/77137 и европейский патент № EP 413622. Кроме того, что касается биспецифического антитела, описанного выше, специфичности антител можно делать такими, что один связывающий домен антитела связывается с FXIa, в то время как второй связывающий домен антитела связывается с сывороточным альбумином, предпочтительно - HSA.

[0124] Стратегии повышения времени полужизни особенно полезны для нанотел, связывающих средств на основе фибронектина и других антител или белков, для которых желательно повышенное время полужизни *in vivo*.

#### **Конъюгаты антитела**

[0125] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителам или их фрагментам для применения в способах, представленных в настоящем описании (например, способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов), специфически связывающимся с белком FXIa, рекомбинантно слитым или химически конъюгированным (включая ковалентную и нековалентную конъюгацию) с гетерологичным белком или полипептидом (или его фрагментом, предпочтительно, полипептидом из по меньшей мере 10, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100 аминокислот) для получения слитых белков. В частности, настоящее изобретение относится к слитым белкам, содержащим антигенсвязывающий фрагмент антитела, представленного в настоящем описании (например, Fab-фрагмент, Fd-фрагмент, Fv-фрагмент, F(ab)<sub>2</sub>-фрагмент, домен VH, CDR VH, домен VL или CDR VL), и гетерологичному белку, полипептиду или пептиду для применения в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов. В этой области известны способы слияния или конъюгации белков,

полипептидов или пептидов с антителом или фрагментом антитела. См., например, патенты США №№ 5336603, 5622929, 5359046, 5349053, 5447851 и 5112946; европейские патенты №№ EP 307434 и EP 367166; международные публикации №№ WO 96/04388 и WO 91/06570; Ashkenazi *et al.*, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 10535-10539; Zheng *et al.*, 1995, J. Immunol. 154:5590-5600; и Vil *et al.*, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-11341.

[0126] Дополнительные слитые белки можно получать способами генной перестановки, перестановки мотивов, перестановки экзонов и/или перестановки кодонов (в совокупности обозначаемых как "перестановка ДНК"). Перестановку ДНК можно использовать для изменения активностей антител по изобретению или их фрагментов (например, антител или их фрагментов с более высокими аффинностями и более низкими скоростями диссоциации). См., как правило, патенты США №№ 5605793, 5811238, 5830721, 5834252 и 5837458; Patten *et al.*, 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8:724-33; Narayana, 1998, Trends Biotechnol. 16(2):76-82; Hansson, *et al.*, 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76; и Lorenzo and Blasco, 1998, Biotechniques 24(2):308-313 (каждый из этих патентов и публикаций включен, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме). Антитела или их фрагменты или кодируемые антитела или их фрагменты можно изменять с помощью случайного мутагенеза посредством ПЦР сниженной точности, случайного встраивания нуклеотидов или других способов перед рекомбинацией. Полинуклеотид, кодирующий антитело или его фрагмент, специфически связывающееся с белком FXIa, можно рекомбинировать с одним или более компонентами, мотивами, секциями, частями, доменами, фрагментами и т.д. одной или более гетерологичных молекул.

[0127] Кроме того, антитела или их фрагменты можно подвергать слиянию с маркерными последовательностями, такими как пептид, для облегчения очистки. В некоторых вариантах осуществления маркерная аминокислотная последовательность является гексагистидиновым пептидом (SEQ ID NO: 48), таким как метка, представленная, помимо прочего, в векторе pQE (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311), который является коммерчески доступным. Как описано в Gentz *et al.*, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824, например, гексагистидин (SEQ ID NO: 48) обеспечивает удобную очистку слитого белка. Другие пептидные метки, которые можно использовать для очистки, включают, в качестве неограничивающих примеров, гемагглютининовую ("НА") метку, соответствующую эпитопу, полученному из белка гемагглютинина гриппа (Wilson *et al.*, 1984, Cell 37:767), и метку "FLAG".

[0128] В других вариантах осуществления антитела для детекции ADA можно конъюгировать с диагностическим или детектируемым средством. Такую детекцию можно осуществлять посредством связывания антитела с детектируемыми веществами, включая, в качестве неограничивающих примеров, различные ферменты, в качестве неограничивающих примеров, такие как, пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза, бета-галактозидаза, или ацетилхолинэстераза; простетические группы, в качестве неограничивающих примеров, такие как, стрептавидин/биотин и авидин/биотин; флуоресцентные материалы, в качестве неограничивающих примеров, такие как

умбеллиферон, флуоресцеин, изотиоцианат флуоресцеин, родамин, дихлортриазиниламин флуоресцеин, дансилхлорид или фикоэритрин; люминесцентные материалы, в качестве неограничивающих примеров, такие как, люминол; биолюминесцентные материалы, такие как, в качестве неограничивающих примеров, люцифераза, люциферин и экворин; радиоактивные материалы, в качестве неограничивающих примеров, такие как йод ( $^{131}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{123}\text{I}$  и  $^{121}\text{I}$ ), углерод ( $^{14}\text{C}$ ), сера ( $^{35}\text{S}$ ), тритий ( $^3\text{H}$ ), индий ( $^{115}\text{In}$ ,  $^{113}\text{In}$ ,  $^{112}\text{In}$  и  $^{111}\text{In}$ ), технеций ( $^{99}\text{Tc}$ ), таллий ( $^{201}\text{Tl}$ ), галлий ( $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ), палладий ( $^{103}\text{Pd}$ ), молибден ( $^{99}\text{Mo}$ ), ксенон ( $^{133}\text{Xe}$ ), фтор ( $^{18}\text{F}$ ),  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{159}\text{Gd}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{140}\text{La}$ ,  $^{175}\text{Yb}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{68}\text{Ge}$ ,  $^{57}\text{Co}$ ,  $^{65}\text{Zn}$ ,  $^{85}\text{Sr}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{153}\text{Gd}$ ,  $^{169}\text{Yb}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{54}\text{Mn}$ ,  $^{75}\text{Se}$ ,  $^{113}\text{Sn}$  и  $^{117}\text{Tm}$ ; и позитронно-активные металлы с использованием различных способов позитронно-эмиссионной томографии и ионы нерадиоактивных парамагнитных металлов. В некоторых вариантах осуществления антитело для детекции ADA содержится в рутенированной детекторной смеси.

[0129] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение дополнительно включает применение антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их фрагментов, конъюгированных с терапевтическим веществом, в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов. Антитело или его фрагмент можно конъюгировать с терапевтическим веществом, таким как цитотоксин, например, цитостатическим или цитопатическим средством, терапевтическим средством или ионом радиоактивного металла, например, альфа-излучателями. Цитотоксин или цитотоксическое средство включает любое средство, вредоносное для клеток.

[0130] Кроме того, антитело или его фрагмент можно конъюгировать с терапевтическим веществом или лекарственным веществом, с помощью которого модифицируют указанный биологический ответ, и такое конъюгированное антитело можно использовать в способе детекции ADA против антител к фактору XI и/или к фактору XIa или их антигенсвязывающих фрагментов. Терапевтические вещества или лекарственные вещества не следует истолковывать как ограниченные классическими химическими терапевтическими средствами. Например, лекарственное вещество может являться белком, пептидом или полипептидом, обладающим желаемой биологической активностью. Такие белки могут включать, например, токсин, такой как абрин, рицин А, экзотоксин синегнойной палочки, холера токсин или дифтерийный токсин; белок, такой как фактор некроза опухоли,  $\alpha$ -интерферон,  $\beta$ -интерферон, фактор роста нервов, фактор роста тромбоцитов, тканевый активатор плазминогена, апоптотическое средство, антиангиогенное средство или модификатор биологического ответа, такой как, например, лимфокин.

[0131] Кроме того, антитело можно конъюгировать с терапевтическими веществами, такими как ион радиоактивного металла, такими как альфа-излучатели, такие как  $^{213}\text{Bi}$  или макроциклические хелаторы, которые можно использовать для конъюгации ионов радиоактивных металлов, включая, в качестве неограничивающих примеров,  $^{131}\text{In}$ ,  $^{131}\text{Lu}$ ,  $^{131}\text{Y}$ ,  $^{131}\text{Ho}$ ,  $^{131}\text{Sm}$ , с полипептидами. В некоторых вариантах осуществления

макроциклическим хелатором является 1,4,7,10-тетраазациклододекан-N, N',N'',N'''-тетрауксусная кислота (DOTA), которую можно присоединять к антителу через линкерную молекулу. Такие линкерные молекулы общепринято известны в этой области и описаны в Denardo *et al.*, 1998, Clin Cancer Res. 4(10):2483-90; Peterson *et al.*, 1999, Bioconjug. Chem. 10(4):553-7; и Zimmerman *et al.*, 1999, Nucl. Med. Biol. 26(8):943-50, каждая из которых включена в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

[0132] Способы конъюгации терапевтических веществ с антителами хорошо известны, см., например, Arnon *et al.*, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", в Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld *et al.* (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom *et al.*, "Antibodies For Drug Delivery", в Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson *et al.* (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", в Monoclonal Antibodies 84: Biological And Clinical Applications, Pinchera *et al.* (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", в Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin *et al.* (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), и Thorpe *et al.*, 1982, Immunol. Rev. 62:119-58.

[0133] Антитела также можно присоединять к твердым подложкам, особенно подходящим для иммунологических анализов или очистке целевого антигена. Такие твердые подложки включают, в качестве неограничивающих примеров, стекло, целлюлозу, полиакриламид, нейлон, полистирол, поливинилхлорид или полипропилен.

#### **Детекция и измерение противолечекарственного антитела (ADA)**

[0134] Авторы настоящего изобретения разработали новый подход для качественной и/или количественной детекции ADA к фактору XI/XIa в образце, являющийся эффективным для снижения и элиминации помех, вызванных лекарственным средством или мишенью при детекции ADA.

##### *Анализ ADA*

[0135] Таким образом, настоящее изобретение относится к способу детекции противолечекарственного антитела (ADA) против антитела к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающего фрагмента, где способ включает: инкубацию образца с кислотой для диссоциации комплексов антитело к фактору XI и/или к фактору XIa-антиген и/или диссоциации комплексов антитело к фактору XI и/или к фактору XIa-ADA, присутствующих в образце, для получения кислотной вытяжки, инкубацию кислотной вытяжки на планшете, покрытом антителом к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающим фрагментом, нейтрализацию кислотной вытяжки и детекцию наличия ADA с использованием рутенированной детекторной смеси. В некоторых вариантах осуществления антитело к фактору XI и/или к фактору XIa является антителом 1.

[0136] В некоторых вариантах осуществления образец является образцом индивидуума, например, человека. В некоторых вариантах осуществления образец выбран из группы, состоящей из крови, плазмы или сыворотки, полученной из индивидуума,

например, человека. В некоторых вариантах осуществления образец не получают из индивидуума. В некоторых вариантах осуществления образец является образцом *in vitro*, подготовленным к тестированию, например, образцом, содержащим лекарственное средство, мишень и ADA. В некоторых вариантах осуществления способ включает начальную стадию получения образца.

[0137] Подходящие кислоты для диссоциации комплексов антитело к фактору XI и/или к фактору XIa-антиген и/или диссоциации комплексов антитело к фактору XI и/или к фактору XIa-ADA включают, в качестве неограничивающих примеров, уксусную кислоту, пропионовую кислоту, молочную кислоту, яблочную кислоту, винную кислоту, лимонную кислоту или фосфорную кислоту или их смеси. В некоторых вариантах осуществления кислота выбрана из группы, состоящей из уксусной кислоты, лимонной кислоты, фосфорной кислоты и их смесей. В некоторых вариантах осуществления кислота является уксусной кислотой. В настоящем описании предусмотрено, что pH конкретной кислоты или комбинации кислот можно доводить до желаемого pH, например, известными способами в этой области. Концентрация кислоты, например, уксусной кислоты, может составлять приблизительно 50 мМ, приблизительно 100 мМ, приблизительно 150 мМ, приблизительно 200 мМ, приблизительно 250 мМ, приблизительно 300 мМ, приблизительно 350 мМ, приблизительно 400 мМ или приблизительно 500 мМ. В некоторых вариантах осуществления концентрация кислоты, например, уксусной кислоты, составляет приблизительно 300 мМ.

[0138] Образец можно инкубировать с кислотой для диссоциации в течение желаемого периода времени. Например, образец можно инкубировать с кислотой в течение приблизительно 5 минут, приблизительно 10 минут, приблизительно 15 минут, приблизительно 30 минут, приблизительно 45 минут или приблизительно 60 минут. В некоторых вариантах осуществления образец инкубируют с кислотой в течение приблизительно 10 минут. В некоторых вариантах осуществления образец инкубируют с кислотой при комнатной температуре. В настоящем описании предусмотрено, что температура указанной инкубации может влиять на необходимое время инкубации, т.е. образец, инкубируемый при температуре ниже комнатной, потребует большего времени инкубации, и образец, инкубируемый при температуре выше комнатной, потребует меньшего времени инкубации.

[0139] Планшет для анализа можно сначала покрывать молекулой (например, белком) для повышения аффинности лекарственного средства (например, антитела 1) к планшету. В некоторых вариантах осуществления планшет покрывают стрептавидином, и лекарственное средство биотинилировано. В некоторых вариантах осуществления планшет покрывают никелем, и лекарственное средство имеет гистидиновую метку (например, бх-His). В некоторых вариантах осуществления планшет покрывают антителом небольшой пептидной меткой, и лекарственное средство модифицировано (например, генетически или химически) для экспрессии указанной метки (например, V5, FLAG, Мус, HA, GST, GFP и

т.д.). В этой области известны альтернативные способы для повышения аффинности к лекарственному средству/белку.

[0140] Концентрация антитела к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающего фрагмента может варьироваться в зависимости от условий анализа. В некоторых вариантах осуществления концентрация антитела к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающего фрагмента (например, антитела 1) составляет от приблизительно 0,05 мкг/мл до приблизительно 0,45 мкг/мл, от приблизительно 0,10 мкг/мл до приблизительно 0,40 мкг/мл, от приблизительно 0,15 мкг/мл до приблизительно 0,35 мкг/мл или от приблизительно от 0,20 мкг/мл до приблизительно 0,30 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация антитела к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающего фрагмента (например, антитела 1) выбрана из группы, состоящей из 0,1 мкг/мл, 0,25 мкг/мл, 0,5 мкг/мл, 0,75 мкг/мл и 1 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация антитела к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающего фрагмента (например, антитела 1) составляет приблизительно 0,25 мкг/мл.

[0141] В некоторых вариантах осуществления способ включает стадию нейтрализации, где нейтрализация позволяет ADA связываться с антителом к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающим фрагментом (например, антителом 1) на покрытом планшете. В некоторых вариантах осуществления в нейтрализации используют основание при pH приблизительно 8,0. В настоящем описании предусмотрено, что pH конкретного основания или комбинации оснований можно доводить до желаемого pH для нейтрализации, например, известными в этой области способами.

[0142] Подходящие основания для стадии нейтрализации включают, в качестве неограничивающих примеров, Трис, Фосфат, CAPS, CHAPS, ЭДТА, EGTA, HEPES, PIPES, MOPS, трицин, глицин, гистидин, триэтаноламин и их смеси. В некоторых вариантах осуществления основание выбрано из группы, состоящей из Трис, фосфата, HEPES, триэтанолamina и их смесей. В некоторых вариантах осуществления основание является Трис. В некоторых вариантах осуществления основание является Трис при pH приблизительно 8,0.

[0143] В некоторых вариантах осуществления ADA определяют с использованием рутенилированной детекторной смеси. В некоторых вариантах осуществления рутенилированная детекторная смесь содержит антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело является антителом к IgG человека, антителом к IgM человека, антителом к IgE человека, антителом к Ig кролика или любой их комбинацией. В некоторых вариантах осуществления рутенилированная детекторная смесь содержит рутенилированное антитело к IgG человека. В некоторых вариантах осуществления рутенилированная детекторная смесь содержит рутенилированное антитело к IgM человека. В некоторых вариантах осуществления рутенилированная детекторная смесь содержит рутенилированное антитело к IgE человека. В некоторых вариантах осуществления рутенилированная детекторная смесь содержит рутенилированное антитело

к Ig кролика. В некоторых вариантах осуществления рутенилированная детекторная смесь содержит комбинацию указанных рутенилированных антител.

[0144] В некоторых вариантах осуществления способ включает стадию промывки после любой из указанных выше стадий. В некоторых вариантах осуществления способ включает промывку после инкубации. Стадию промывки можно осуществлять с использованием подходящего промывочного буфера, например, забуференного Трис-НСI физиологического раствора (TBS), TBS Tween 20, фосфатно-солевого буфер а(PBS), PBS Tween 20 и т.д. В некоторых вариантах осуществления стадию промывки осуществляют с использованием PBS Tween 20. В некоторых вариантах осуществления стадию промывки осуществляют с использованием PBS 0,05% Tween 20.

[0145] В некоторых вариантах осуществления планшет блокируют перед добавлением образца. Неограничивающие примеры блокирующих буферов могут включать бычий сывороточный альбумин (BSA), молоко, сыворотку козы, эмбриональную телячью сыворотку (FBS), лошадиную сыворотку (HS) или казеин. В некоторых вариантах осуществления блокирующий буфер содержит BSA в фосфатно-солевом буфере с Tween-20 (PBS-T). В некоторых вариантах осуществления BSA в PBS-T находится в концентрации приблизительно 1%, приблизительно 2,5%, приблизительно 5%, приблизительно 7,5% и приблизительно 10%. В некоторых вариантах осуществления BSA в PBS-T находится в концентрации приблизительно 5%.

[0146] Как показано на фиг. 1, в некоторых вариантах осуществления анализа, представленного в настоящем описании, смесь, содержащую биотинилированное антитело 11, рутенилированное антитело 12, и антитело к антителу 1 3, инкубируют с образцом (например, кровью, плазмой или сывороткой) и добавляют на покрытый стрептавидином планшет 4. В некоторых вариантах осуществления детектируемый сигнал (например, хемилюминесцентный сигнал, например, свет 5) генерируется пропорционально концентрации антител к антителу 1. В некоторых вариантах осуществления образец (например, кровь, плазму или сыворотку) получают из яванского макака.

[0147] Как показано на фиг. 2, в некоторых вариантах осуществления анализа, представленного в настоящем описании, образец (например, кровь, плазму или сыворотку), содержащий антитело 1 10, антитело к антителу 1 11, гомодимерный FXI и/или FXIa 12, комплексы антитело к антителу 1-FXI/FXIa 13, и комплексы антитело к антителу 1-антитело 1 14, инкубируют с бусами (например, стрептавидиновыми бусами) 15, где бусы связывают с антителами к FXI 16 для получения истощенного образца. Затем истощенный образец инкубируют с кислотой 17 для диссоциации комплексов антитело 1-антитело к антителу 1, присутствующих в истощенном образце, для получения диссоциировавшего образца. Диссоциировавший образец инкубируют со смесью, содержащей биотинилированное антитело 118, рутенилированное антитело 1 19 и антитело к антителу 1, и добавляют на покрытый стрептавидином планшет 20. В некоторых вариантах осуществления детектируемый сигнал (например, хемилюминесцентный сигнал, например, свет) генерируется пропорционально концентрации антител к антителу 1. В некоторых

вариантах осуществления образец (например, кровь, плазму или сыворотку) получают из яванского макака.

[0148] Как показано на фиг. 3, в некоторых вариантах осуществления анализа, представленного в настоящем описании, смесь, содержащую биотинилированное антитело **130**, рутенилированный антиобезьяний иммуноглобулин **31** и антитело к антителу **1 32**, инкубируют с образцом (например, кровью, плазмой или сывороткой), содержащим гомодимерный FXI и/или FXIa **33**, и добавляют на покрытый стрептавидином планшет **34**. В некоторых вариантах осуществления детектируемый сигнал (например, хемилюминесцентный сигнал, например, свет **35**) генерируется пропорционально концентрации антител к антителу **1**. В некоторых вариантах осуществления с помощью рутенилированного антиобезьяньего иммуноглобулина не определяют эндогенные димеры FXI/FXIa. В некоторых вариантах осуществления образец (например, кровь, плазму или сыворотку) получают из яванского макака.

[0149] Как показано на фиг. 4, в некоторых вариантах осуществления анализа, представленный в настоящем описании, образец (например, кровь, плазму или сыворотку), содержащий антитело **1 40**, антитело к антителу **1 41**, гомодимерный FXI и/или FXIa **42**, комплексы антитело **1-FXI/FXIa 43** и комплексы антитело к антителу **1-антитело 1 44**, инкубируют с кислотой **45** для диссоциации комплексов антитело **1-антитело к антителу 1**, присутствующих в образце, для получения кислотной вытяжки. Кислотную вытяжку инкубируют со смесью, содержащей биотинилированное антитело **1**, рутенилированный антиобезьяний или антикроличий иммуноглобулин **46** и антитело к антителу **1**, и добавляют на планшет с высоким связыванием (например, планшет для ELISA с высоким связыванием **47**). В некоторых вариантах осуществления детектируемый сигнал (например, хемилюминесцентный сигнал, например, свет **48**) генерируется пропорционально концентрации антител к антителу **1**. В некоторых вариантах осуществления с помощью рутенилированного антиобезьяньего или антикроличьего иммуноглобулина не определяют эндогенные димеры FXI/FXIa. В некоторых вариантах осуществления образец (например, кровь, плазму или сыворотку) получают из яванского макака.

[0150] Как показано на фиг. 5, в некоторых вариантах осуществления анализа, представленного в настоящем описании, образец (например, кровь, плазму или сыворотку), содержащей антитело **1 50**, антитело к антителу **1 51**, гомодимерный FXI и/или FXIa **52**, комплексы антитело **1-FXI/FXIa 53** и комплексы антитело к антителу **1-антитело 1 54**, инкубируют с кислотой **55** для диссоциации комплексов антитело **1-антитело к антителу 1** и/или комплексов антитело **1-FXI/FXIa**, присутствующих в образце, для получения кислотной вытяжки. Кислотная вытяжка добавляют на планшет **56**, покрытый антителом **1**, и кислотную вытяжку нейтрализуют посредством добавления подходящего основания **57** (например, Трис). Рутенилированная детекторная смесь **58** содержит рутенилированное антитело к IgG человека, антитело к IgM человека, рутенилированное антитело к IgE человека и рутенилированное антитело к Ig кролика. В некоторых вариантах осуществления детектируемый сигнал (например, хемилюминесцентный сигнал, например,

свет) генерируется пропорционально концентрации антител к антителу 1. В некоторых вариантах осуществления с помощью рутенилированной детекторной смеси не определяют эндогенные димеры FXI/FXIa. В некоторых вариантах осуществления с помощью рутенилированной детекторной смеси не определяют антитела 1. В некоторых вариантах осуществления образец (например, кровь, плазму или сыворотку) получают из человека.

### **ПРИМЕРЫ**

[0151] Когда настоящее изобретение описано в целом, оно будет более понятным со ссылкой на следующие примеры, включенные исключительно для иллюстрирования некоторых аспектов и вариантов осуществления изобретения, и не предназначенные для какого-либо ограничения объема настоящего изобретения.

#### **Пример 1: Разработка анализа противолекарственного антитела (ADA) к фактору XI и/или фактору XIa для образцов яванского макака**

[0152] Исходно наличие противолекарственных антител (ADA) к фактору XI и к фактору XIa (FXI/FXIa) в сыворотке яванского макака анализировали с использованием стандартного мостикового анализа (фиг. 1). Смесь, содержащую биотинилированное антитело 1, рутенилированное антитело 1 и ADA к антителу 1, добавляли на покрытый стрептавидином планшет. Генерирование света в хемилюминесцентной реакции происходило пропорционально ADA. Однако этот подход приводил к высокой доле ложноположительных результатов, т.к. эндогенный белок-мишень, гомодимерный FXI/FXIa, образовывал мостик с меченым антителом 1.

[0153] Таким образом, предполагали, что включение стадии истощения эндогенного, целевого гомодимерного FXI/FXIa будет снижать высокую долю ложноположительных результатов. Таким образом, перед описанным выше мостиковым анализом добавляли дополнительные две стадии: истощение эндогенного FXI/FXIa с помощью покрытых антителом к FXI/FXIa бусин с последующей диссоциацией лекарственного средства от антитела с помощью кислоты (фиг. 2). Однако стадия истощения с использованием антитела к FXI являлась неэффективной, и не определяли улучшения целевой интерференции в сыворотке.

Таким образом, тестировали новый формат анализа с использованием рутенилированного антитела к Ig обезьяны в качестве детектора (фиг. 3). Сигнал: определение коэффициента шума показало значительное улучшение интерференции FXI, как показано в таблице 2 ниже.

Таблица 2. Соотношение сигнал/шум для анализа ADA с использованием рутенированного антитела к Ig обезьяны.

		Буфер				Сыворотка обезьяны				Сыворотка человека			
		AD А	Мишен ь (1 мкг/мл) + ADA	Мишен ь (10 мкг/мл) + ADA	Мишен ь (50 мкг/мл) + ADA	AD А	Мишен ь (1 мкг/мл) + ADA	Мишен ь (10 мкг/мл) + ADA	Мишен ь (50 мкг/мл) + ADA	AD А	Мишен ь (1 мкг/мл) + ADA	Мишен ь (10 мкг/мл) + ADA	Мишен ь (50 мкг/мл) + ADA
	ADA (нг/мл)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Отсутст вие лекарст венного средства	500	58,4 4	64,23	57,07	54,52	51,1 1	50,68	43,01	36,84	44,7 9	46,47	38,99	35,10
	100	23,1 6	23,71	19,06	17,20	16,7 4	15,83	12,76	11,35	14,0 5	13,72	11,34	10,17
Лекарст венное средство (120 мг/мл)	500	2,48	2,23	2,26	2,31	1,83	1,97	1,69	1,88	2,02	1,90	1,90	2,10
	100	1,39	1,28	1,28	1,28	1,20	1,16	0,98	1,18	1,20	1,11	1,16	1,11

[0154] Схема конечного формата анализа для детекции ADA яванского макака приведена на фиг. 4. Обобщение параметров валидации анализа приведено в таблице 3. Результаты анализа толерантности к лекарственному средству и целевой интерференции приведены в таблице 4.

**Таблица 3.** Обобщение валидации ADA у яванского макака

<b>Параметр валидации</b>	<b>Результат</b>	<b>Соответствие критериям пригодности</b>
Пороговое значение скрининга (категория 1)	47 индивидуумов, подвергнутых скринингу в 7 анализах. Образцы с соотношениями S:N > порогового значения скрининга 1,16 являются потенциально положительными.	Приведено как найденное. Это обоснованное пороговое значение
Пороговое значение подтверждения (категория 2)	Антитело 1 при 400 мкг/мл; 47 индивидуумов в 7 анализах. Пороговое значение подтверждения представляло собой 29,35% ингибирования.	Приведено как найденное. Это обоснованное пороговое значение
Пороговое значение титрования (категория 3)	Наибольшее разведение образца, имеющее соотношение S:N > 1,27	Приведено как найденное. Это обоснованное пороговое значение
Относительная чувствительность	3,77 нг/мл в объединенной сыворотке яванского макака при использовании поликлональной сыворотки кролика в качестве суррогата	Да. Соответствует руководству FDA по рекомендуемой чувствительности (500 нг/мл)
Точность	Высокий положительный контроль: 1,17-14,31% Низкий положительный контроль: 3,94-11,16%	Да, все <20%
Селективность	10/10 неподтвержденных индивидуумов являлись отрицательными 10/10 подтвержденных индивидуумов с LPC являлись положительными	Да

**Таблица 4.** Обобщение валидации ADA у яванского макака

Толерантность лекарственного средства		Целевая интерференция	
Антитело к антителу 1 (нг/мл)	Прогнозируемая толерантность к лекарственному средству (мкг/мл)	Антитело к антителу 1 (нг/мл)	Прогнозируемая целевая интерференция (мкг/мл)
500	> 500	500	> 199
100	69,5	100	> 199
33,3	11,7	33,3	> 199
11,1	6,92	11,1	71,0
3,70	2,65	3,70	NA

**Пример 2: Разработка анализа противолекарственного антитела (ADA) к фактору XI и/или фактору XIa для образцов человека**

[0155] Анализ для яванского макака адаптировали для валидации на сыворотке человека. Предполагали, что тестирование антитела 1 необходимо осуществлять в формате Fab во избежание неспецифического связывания с антителом к Ig человека. Антитело 1 расщепляли пепсином или папаином для получения F(ab')<sub>2</sub>-фрагментов. Однако полученный Fc-фрагмент повышал фон до неприемлемых уровней. Отрицательная очистка для сохранения Fc-фрагмента приводила к очень низкому выходу F(ab')<sub>2</sub>-фрагментов и отсутствию реакционной способности. Таким образом, было определено использованием формата полноразмерного антитела.

[0156] Схема формата анализа приведена на фиг. 5. В кратком изложении, 96-луночный планшет покрывали антителом 1 в концентрации 0,25 мкг/мл, а затем блокировали 5% BSA в PBS-T. Образцы инкубировали с 300 мМ уксусной кислотой в течение десяти минут для диссоциации комплексов антитело к фактору XI и/или к фактору XIa-антиген и для диссоциации комплексов антитело к фактору XI и/или к фактору XIa-ADA, получая кислотную вытяжку. Блокированный планшет промывали и добавляли 1 М Трис при pH 8,0 для нейтрализации кислоты. Затем кислотную вытяжку инкубировали на планшете, покрытом антителом 1. Добавляли детекторную смесь антитела к IgG человека/IgM, рутенированного антитела к IgE человека и рутенированного антитела к Ig кролика. После инкубации планшет промывали кислотной вытяжкой. Затем количественно анализировали хемилюминесценцию для определения ADA к антителу 1.

[0157] тестировали рекомендованные FDA три категории условий анализа ADA: пороговое значение с долей ложноположительных результатов 5% в скрининговом анализе, специфичность ответа на лекарственное средство в анализе для подтверждения и полуколичественная оценка концентрации ADA в анализе титра.

[0158] Результаты скринингового анализа обобщены в таблице 5. Планшет покрывали в концентрации 0,25 мкг/мл. Рутенированная детекторная смесь

антикروичьего антитела 0,1 мкг/мл, антитела к IgG/M человека 0,01 мкг/мл и антитела к IgE человека 0,01 мкг/мл. Планшет блокировали с использованием буфера 5% бычьего сывороточного альбумина (BSA) в PBS-T. результаты этого анализа свидетельствуют о высокой чувствительности с минимальным фоном, интерференцией FXI и лекарственного средства.

**Таблица 5.** Результаты скринингового анализа ADA в образцах человека.

Концентрация (нг/мл)	ADA	ADA	ADA+FXI (50 мкг/мл)	ADA+лекарственное средство (500 мкг/мл)
500		745,90	741,72	6,05
167		385,26	364,72	2,85
18,5		57,39	51,75	1,24
6,17		19,94	18,91	1,24
0		0,84	<b>0,98</b>	1,20

[0159] Результаты анализа для подтверждения обобщены в таблице 6. Как показано, чувствительность достигала по меньшей мере 1,23 нг/мл.

**Таблица 6.** Результаты анализа для подтверждения ADA в образцах человека.

Концентрация ADA (нг/мл)	Скрининг		Подтверждения (400 мкг/мл антитела 1)	
	Счет ECL	S:N	Счет ECL	% ингибирования
<b>500</b>	128742	521,22	828	99,36
<b>100</b>	37025	149,90	429	98,84
<b>33,3</b>	21558	87,28	307	98,58
<b>11,1</b>	7313	29,61	308	95,79
<b>3,70</b>	2545	10,30	327	87,15
<b>1,23</b>	939	3,80	266	71,67
NC	247	1,00	221	10,53

[0160] Результаты титрования толерантности к лекарственному средству обобщены в таблице 7. Приведенные значения представляют собой соотношения сигнал:шум.

**Таблица 7.** Результаты титрования толерантности к лекарственному средству ADA в образцах человека.

Концентрация ADA (нг/мл)	ADA	Толерантность к лекарственному средству (мкг/мл)					
		0	12,5	25	50	100	500
<b>500</b>		264,67	20,38	13,60	9,48	6,12	2,91
<b>100</b>		93,31	5,41	3,97	2,84	2,31	1,40
<b>33,3</b>		37,43	2,60	2,04	1,70	1,55	1,09

<b>11,1</b>	14,45	1,56	1,45	1,28	1,17	1,24
<b>3,70</b>	5,89	1,22	1,15	1,19	1,25	1,27
<b>NC</b>	0,86	0,95	0,88	1,13	1,02	1,23

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Способ детекции противолекарственного антитела (ADA) против антитела к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий:
  - a. инкубацию образца с кислотой для диссоциации комплексов антитело к фактору XI и/или к фактору XIa-антиген и/или диссоциации комплексов антитело к фактору XI и/или к фактору XIa-ADA, присутствующих в образце, для получения кислотной вытяжки,
  - b. инкубацию кислотной вытяжки на планшете, покрытом антителом к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающим фрагментом,
  - c. нейтрализацию кислотной вытяжки и
  - d. детекцию наличия ADA с использованием рутенилированной детекторной смеси.
2. Способ по п.1, где образец является образцом индивидуума.
3. Способ по п.1 или 2, где образец выбран из группы, состоящей из крови, плазмы или сыворотки индивидуума.
4. Способ по п.1, где способ включает начальную стадию получения образца.
5. Способ по любому из пп.1-4, где кислота выбрана из группы, состоящей из уксусной кислоты, лимонной кислоты, фосфорной кислоты и их смесей.
6. Способ по п.5, где кислота является уксусной кислотой.
7. Способ по п.6, где уксусная кислота находится в концентрации приблизительно 300 мМ.
8. Способ по любому из пп.1-7, где антиген является фактором XI и/или фактором XIa.
9. Способ по любому из пп.1-8, где планшет покрывают стрептавидином.
10. Способ по любому из пп.1-9, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент на планшете находится в концентрации, выбранной из группы, состоящей из приблизительно 0,1 мкг/мл, приблизительно 0,25 мкг/мл, приблизительно 0,5мкг/мл, приблизительно 0,75 мкг/мл и приблизительно 1 мкг/мл.
11. Способ по п.10, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент на планшете находится в концентрации приблизительно 0,25 мкг/мл.
12. Способ по любому из пп.1-11, где нейтрализация позволяет ADA связываться с антителом к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающим фрагментом на покрытом планшете.
13. Способ по любому из пп.1-12, где в нейтрализации используют основание при рН приблизительно 8,0.
14. Способ по любому из пп.1-13, где в нейтрализации используют основание, выбранное из группы, состоящей из Трис, фосфата, HEPES, триэтаноламина и их смесей.
15. Способ по п.14, где основание является Трис.
16. Способ по любому из пп.1-14, где рутенилированная детекторная смесь содержит антитело.
17. Способ по п.16, где антитело выбрано из группы, состоящей из антитела к IgG

человека, антитела к IgM человека, антитела к IgE человека, антитела к Ig кролика и любой их комбинации.

18. Способ по любому из пп.1-17, где при детекции специфически определяют ADA, а не фактор XI и/или фактор XIa.

19. Способ по любому из пп.1-18, дополнительно включающий промывку после инкубации.

20. Способ по любому из пп.1-19, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации приблизительно 0,25 мкг/мл.

21. Способ по любому из пп.1-20, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую определяющие комплементарность области HCDR1, HCDR2 и HCDR3 в SEQ ID NO: 9 или 29; и переменную область легкой цепи (VL), содержащую определяющие комплементарность области LCDR1, LCDR2, LCDR3 в SEQ ID NO: 19 или 39.

22. Способ по любому из пп.1-21, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

i. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 24; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 25; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 33; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 34 и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 35;

ii. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 26; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 27; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 28; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 36; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 37 и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 38;

iii. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 44; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 45; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 47; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 37 и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 15; или

iv. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 46; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 4; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 5; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 33; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 14 и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 15.

23. Способ по любому из пп.1-22, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 29, и VH с 90% идентичности в отношении нее; и переменную область легкой цепи (VL), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19, 39, и VL с 90% идентичности в отношении нее.

24. Способ по любому из пп. 1-23, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9 и 29; и переменную область легкой цепи (VL), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19 и 39.

25. Способ по любому из пп. 1-24, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, 11, и тяжелую цепь с 90% идентичности в отношении нее; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, 21, и легкую цепь с 90% идентичности в отношении нее.

26. Способ по любому из пп. 1-25, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41.

27. Способ по любому из пп. 1-26, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa является моноклональным антителом человека.

28. Способ по п. 27, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa имеет изотип IgG1 человека.

29. Способ по п. 27 или 28, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa содержит замены D265A и P329A в Fc-домене.

30. Способ детекции противоядерного антитела (ADA) против антитела к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающего фрагмента,

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

i. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 23; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 24; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 25; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 33; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 34 и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 35;

ii. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 26; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 27; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 28; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 36; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 37 и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 38;

iii. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 43; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 44; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 45; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 47; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 37 и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 15; или

iv. CDR1 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 46; CDR2 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 4; CDR3 переменной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 5; CDR1 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 33; CDR2 переменной области легкой цепи SEQ ID NO: 14 и CDR3 переменной области легкой цепи SEQ ID NO:

15;

и где способ включает:

a. инкубацию образца с кислотой для диссоциации комплексов антитело к фактору XI и/или к фактору XIa-антиген и/или диссоциации комплексов антитело к фактору XI и/или к фактору XIa-ADA, присутствующих в образце, для получения кислотной вытяжки,

b. инкубацию кислотной вытяжки на планшете, покрытом антителом к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающим фрагментом,

c. нейтрализацию кислотной вытяжки и

d. детекцию наличия ADA с использованием рутенилированной детекторной смеси.

31. Способ по п.30, где образец является образцом индивидуума.

32. Способ по п.30 или 31, где образец выбран из группы, состоящей из крови, плазмы или сыворотки индивидуума.

33. Способ по п.30, где способ включает начальную стадию получения образца.

34. Способ по любому из пп.30-33, где кислота выбрана из группы, состоящей из уксусной кислоты, лимонной кислоты, фосфорной кислоты и их смесей.

35. Способ по п.34, где кислота является уксусной кислотой.

36. Способ по п.35, где уксусная кислота находится в концентрации приблизительно 300 мМ.

37. Способ по любому из пп.30-36, где антиген является фактором XI и/или фактором XIa.

38. Способ по любому из пп.30-37, где планшет покрывают стрептавидином.

39. Способ по любому из пп.30-38, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент на планшете находится в концентрации, выбранной из группы, состоящей из приблизительно 0,1 мкг/мл, приблизительно 0,25 мкг/мл, приблизительно 0,5 мкг/мл, приблизительно 0,75 мкг/мл и приблизительно 1 мкг/мл.

40. Способ по п.39, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент на планшете находится в концентрации приблизительно 0,25 мкг/мл.

41. Способ по любому из пп.30-40, где нейтрализация позволяет ADA связываться с антителом к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающим фрагментом на покрытом планшете.

42. Способ по любому из пп.30-41, где в нейтрализации используют основание при рН приблизительно 8,0.

43. Способ по любому из пп.30-42, где в нейтрализации используют основание, выбранное из группы, состоящей из Трис, фосфата, HEPES, триэтаноламина и их смесей.

44. Способ по п.43, где основание является Трис.

45. Способ по любому из пп.30-44, где рутенилированная детекторная смесь содержит антитело.

46. Способ по п.45, где антитело выбрано из группы, состоящей из антитела к IgG человека, антитела к IgM человека, антитела к IgE человека, антитела к Ig кролика и любой

их комбинации.

47. Способ по любому из пп.30-46, где при детекции специфически определяют ADA, а не фактор XI и/или фактор XIa.

48. Способ по любому из пп.30-47, дополнительно включающий промывку после инкубации.

49. Способ по любому из пп.30-48, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент находится в концентрации приблизительно 0,25 мкг/мл.

50. Способ по любому из пп.30-49, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 29, и VH с 90% идентичности в отношении нее; и переменную область легкой цепи (VL), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19, 39, и VL с 90% идентичности в отношении нее.

51. Способ по любому из пп.30-50, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9 и 29; и переменную область легкой цепи (VL), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19 и 39.

52. Способ по любому из пп.30-51, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, 11, и тяжелую цепь с 90% идентичности в отношении нее; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, 21, и легкую цепь с 90% идентичности в отношении нее.

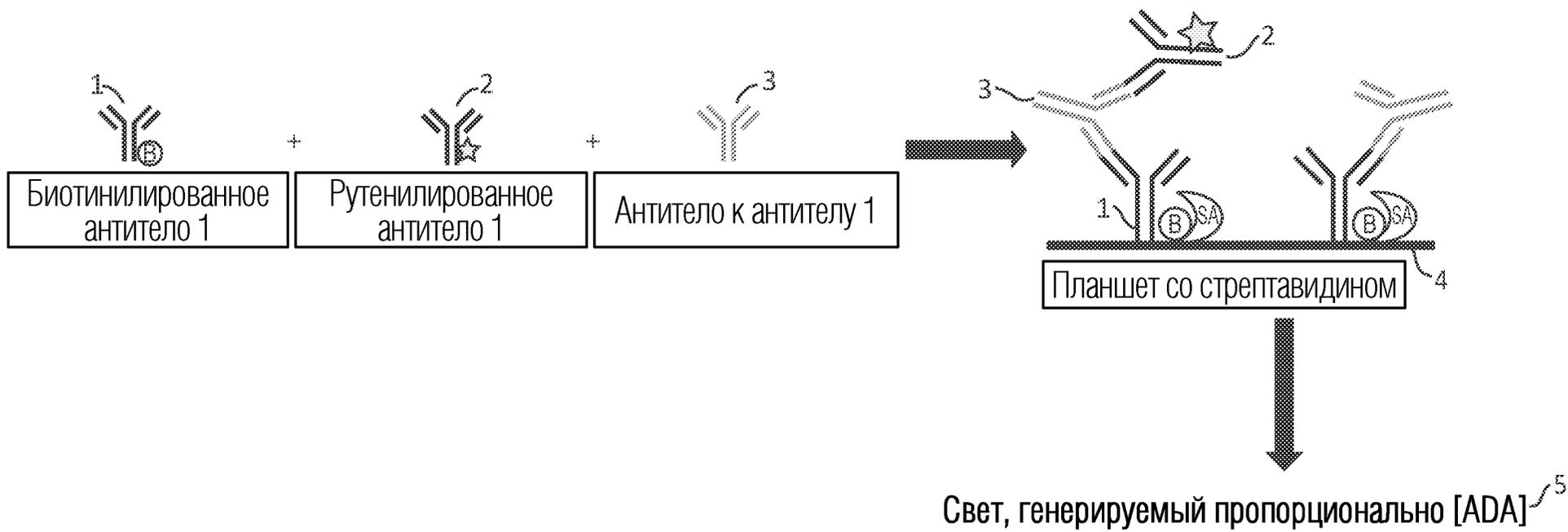
53. Способ по любому из пп.30-52, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41.

54. Способ по любому из пп.30-53, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa является моноклональным антителом человека.

55. Способ по п.54, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa имеет изотип IgG1 человека.

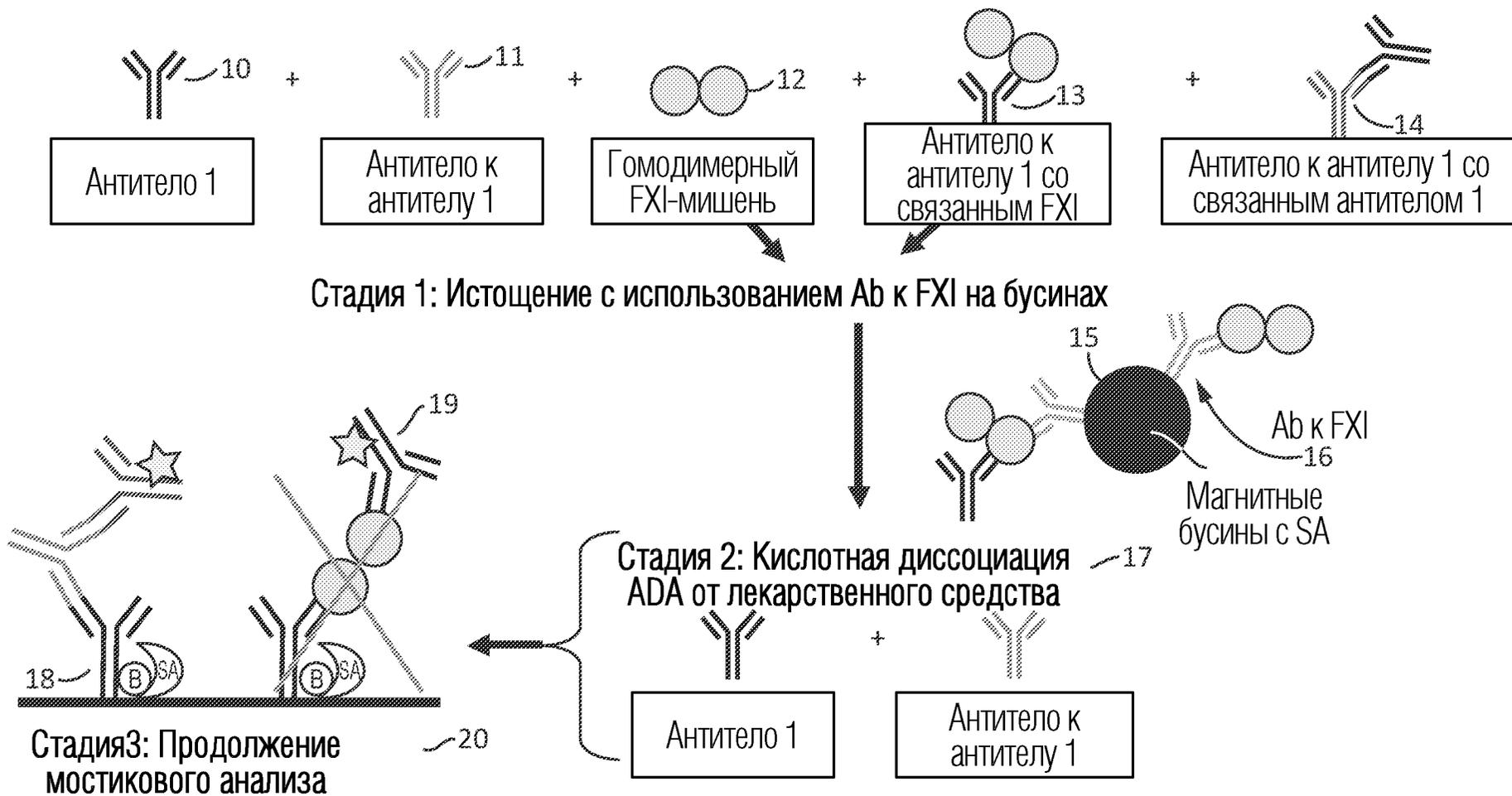
56. Способ по п.54 или 55, где антитело к фактору XI и/или к фактору XIa содержит замены D265A и P329A в Fc-домене.

По доверенности

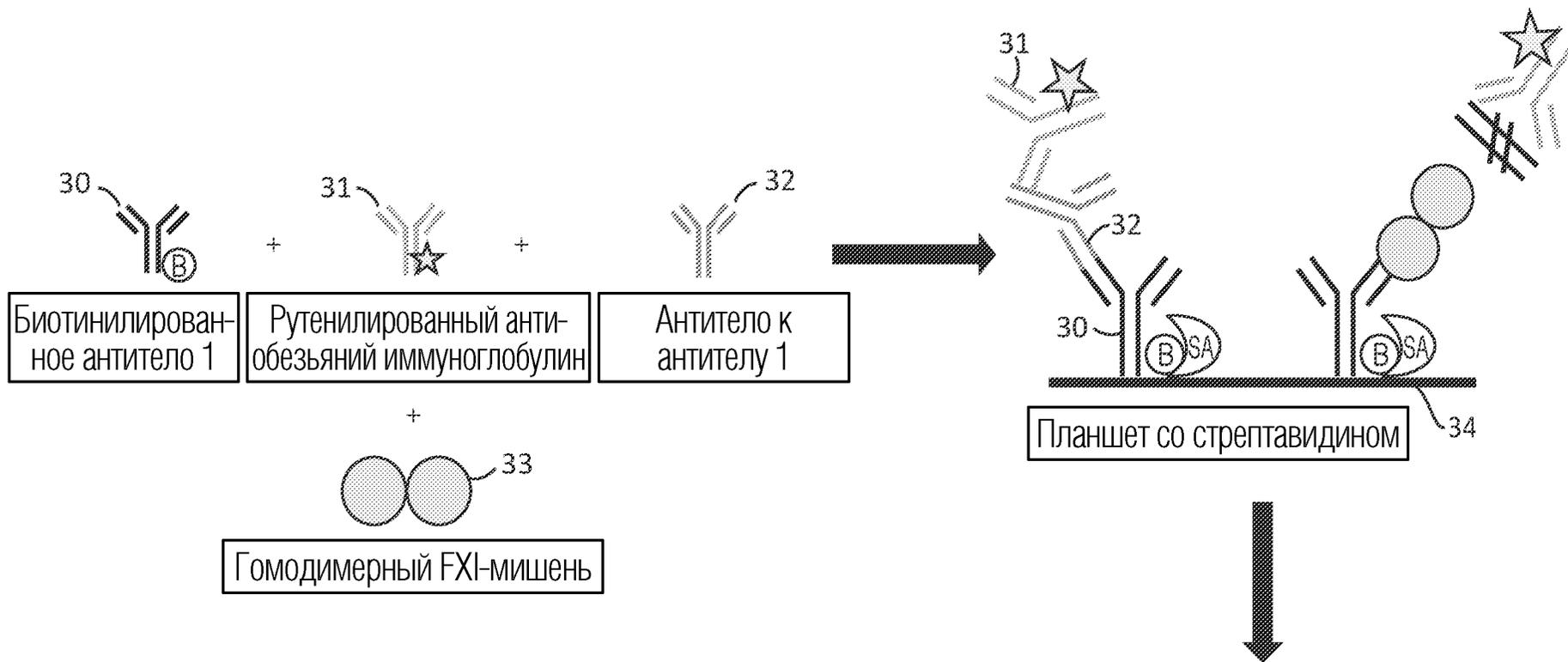


1/5

ФИГ. 1

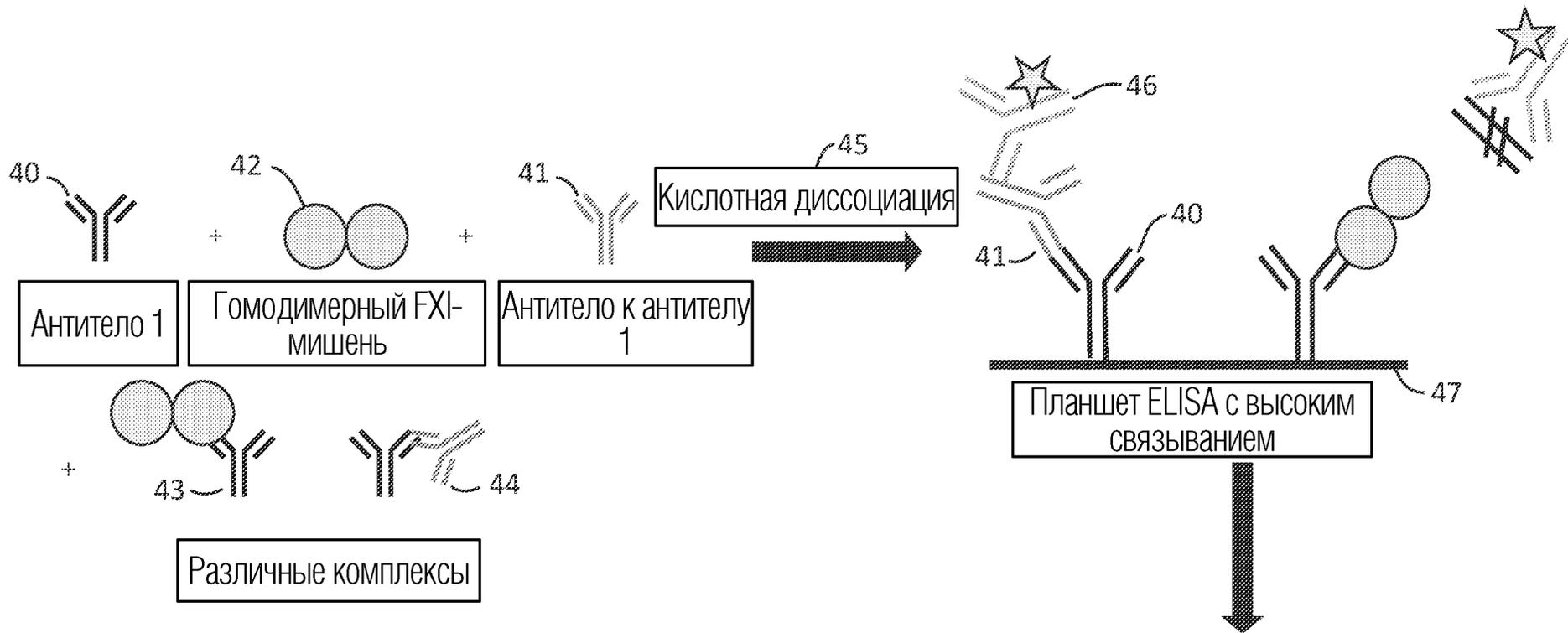


ФИГ. 2



1. Свет, генерируемый пропорционально [ADA]
2. Детектор не связывается с FXI, поэтому ложноположительные результаты отсутствуют

ФИГ. 3

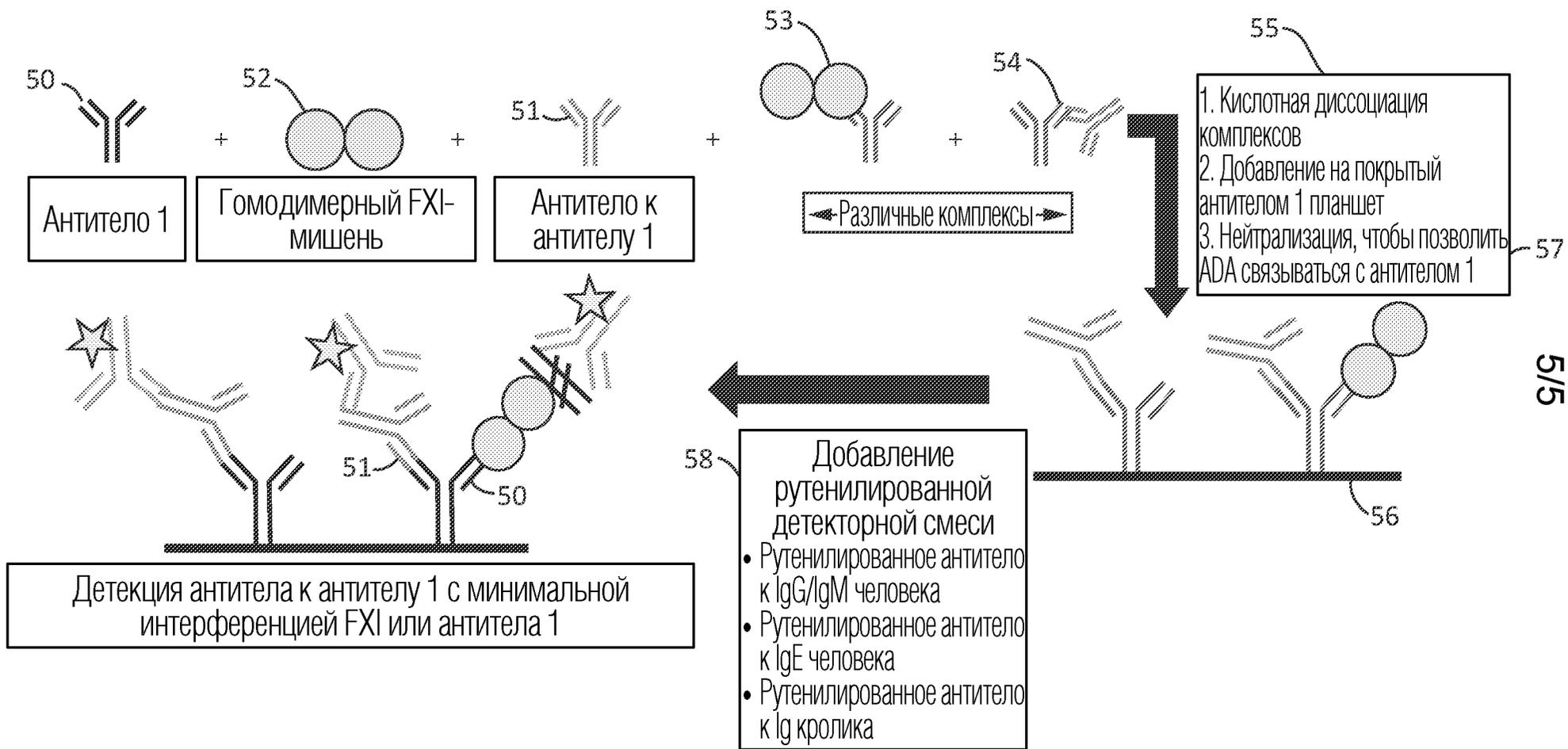


4/5

 HRP-конъюгированный  
 антиобезьяний или  
 антикроличий иммуноглобулин

1. Хромогенный продукт, продуцируемый пропорционально [ADA] ~ 48  
 1. детектор не связывается с FXI, поэтому ложноположительные результаты отсутствуют

ФИГ. 4



ФИГ. 5