

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047575**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.08.08

(21) Номер заявки
202090020

(22) Дата подачи заявки
2018.07.10

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 31/475 (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ЛЕЧЕНИЕ В-КЛЕТОЧНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АФУКОЗИЛИРОВАННЫХ ПРОАПОПТОТИЧЕСКИХ АНТИ-CD19 АНТИТЕЛ В СОЧЕТАНИИ С АНТИ-CD20 АНТИТЕЛАМИ ИЛИ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИМИ СРЕДСТВАМИ

(31) 17305898.3

(32) 2017.07.10

(33) EP

(43) 2020.04.28

(86) PCT/EP2018/068672

(87) WO 2019/011918 2019.01.17

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ИНТЕРНЭШНЛ - ДРАГ - ДИВЕЛОПМЕНТ - БАЙОТЕК (FR)

(72) Изобретатель:
Вермо-Дерош Клодин, Конг-Флор Шанти, Година Марк, Каваллини Брюно (FR)

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(56) WO-A1-2012010562
WO-A1-2012010561
WO-A1-2012010602
WO-A1-2012067981

(57) Изобретение относится к новым комбинированным методам лечения с использованием анти-CD19 антител для обработки раковых В-клеток, экспрессирующих CD19. Одним из предпочтительных способов является применение проапоптотического анти-CD19 MAб или проапоптотического гуманизированного MAб, оптимизированного по Fc. В способах по настоящему изобретению некоторые средства против CD20, такие как Rituxan®, или химиотерапевтические лекарственные средства, такие как винкрестин, могут быть использованы в комбинированной терапии. Способы по настоящему изобретению снижают уровни CD19-положительных В, более конкретно, во всех подтипах диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL) и в фолликулярных лимфомах (FL).

B1

047575

047575

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к области комбинированной терапии с использованием антител или антител и химиотерапевтических агентов. В частности, изобретение относится к применению предпочтительно афукозилированного проапоптоического анти-CD19 антитела для лечения CD19-положительной В-клеточной злокачественности и, в частности, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL) и фолликулярной лимфомы (FL), экспрессирующей CD19, предпочтительно в комбинированной терапии с другим антителом и/или химиотерапевтическим агентом.

Предшествующий уровень техники

Хирургия, химиотерапия, гормональная терапия и/или лучевая терапия являются общими терапевтическими подходами в борьбе с онкологическими заболеваниями. В последние десятилетия также общепринятым стали применение биологической терапии или иммунотерапии. Тем не менее, многие опухоли реагируют лишь частично на существующие способы лечения, и также встречаются случаи резистентности. Поэтому существует острая потребность в альтернативных способах лечения онкологических заболеваний.

В-клеточные типы неходжкинской лимфомы (NHL) включают малый лимфоцитарный/В-клеточный хронический лейкоз (SLL/В-CLL), лимфоплазмоцитоидную лимфому (LPL), лимфому из клеток мантии (MCL), фолликулярную лимфому (FL), диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL) и лимфома Беркитта (BL) (Armitage et al, 2017, pii: S0140-6736 (16) 32407-2).

Фолликулярная лимфома (FL) является вторым наиболее распространенным типом неходжкинской лимфомы (NHL), и на ее долю приходится 10-20% всех лимфом. FL обычно поражает людей в возрасте 55-60 лет. FL характеризуется безболезненным отеком в нескольких местах лимфатических узлов, с вовлечением костного мозга в около 70% случаев. Ритуксимаб в качестве отдельного средства или в сочетании с химиотерапией первой линии является стандартом лечения FL. Хотя FL часто реагирует на лечение, терапия очень редко, если вообще когда-либо, излечивает.

В других попытках улучшить прогноз также тестировали MAb в сочетании с другими молекулами. Например, анти-CD19 MAb оценивали на его синергетическую активность в сочетании с пуриновым аналогом (флударабином), ингибитором тирозинкиназы Брутона (ибрутинибом) или ингибитором фосфоинозитид-3-киназы (иделалисибом) для лечения неходжкинской лимфомы (WO 2013024095, WO 2016189014 и WO 2017032679, соответственно).

Лечение DLBCL с помощью иммуноконъюгата анти-CD19 антитела и майтанзиноида (SAR3419) в сочетании с ритуксимабом исследовали на модели дессиминирования DLBCL (патентное семейство WO 2013017540). Для отдельных объектов лечения статистической значимости улучшения выживаемости, наблюдавшегося после обработки SAR3419 и ритуксимабом, отмечено не было.

В другом исследовании (семейство патентов WO 2012067981) была исследована эффективность афукозилированного анти-CD19 MAb (16C4-afuc MAb), отдельно или в комбинации с анти-CD20 антителом. Было показано, что 164-afuc Ab индуцирует гибель клеток, экспрессирующих CD19, через ADCC (антитело-зависимую клеточную цитотоксичность), но не CDC (комплемент-зависимую цитотоксичность). Было исследовано комбинированное лечение анти-16C4-afuc MAb и анти-CD20 MAb для лечения В-клеточной лимфомы. Более длительная противоопухолевая активность, присущая комбинированному лечению по сравнению с любым отдельным лечением, была выражена в некоторых, но не во всех моделях Беркитта, хотя она была более скромной в представленных моделях других В-клеточных опухолей (DLBCL и ALL). Кроме того, экспериментальные результаты не демонстрируют, что комбинированное лечение анти-CD19 и анти-CD20 MAb было способно вызвать полную ремиссию опухоли.

Следовательно, было бы полезно выявить анти-CD19 MAb 19, которое могло бы хорошо функционировать в комбинации с анти-CD20 MAb, для комбинированного лечения, способного вызывать регрессию опухоли и ремиссию у пациентов, страдающих опухолями, связанными с В-клетками.

На основе анализа профилирования экспрессии генов могут быть идентифицированы два основных подтипа диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL): подтип подобных В-клеткам герминативного центра (GCB) и подтип подобных активированным В-клеткам (ABC). GCB-DLBCL коррелирует с повышенной экспрессией CD10, BCL6 и других маркеров дифференцировки терминального центра. Прогноз GCB-DLBCL лучше, чем у ABC-DLBCL, но 30% GCB-DLBCL нельзя лечить с помощью основного направления терапии, режима R-CHOP (комбинированная терапия с ритуксимабом, циклофосфамидом, доксорубицином, винкристином, преднизолом). ABC DLBCL характеризуется конститутивной активацией сигнального пути NF-κB. Несколько клинических испытаний предполагают улучшение прогноза у пациентов с ABC DLBCL, когда лечение R-CHOP сочетается либо с бортезомибом (ингибитором протеасом, который предотвращает активацию NF-κB), либо с леналидомидом (индуктором выработки IFN-β) (Khan N et al, 2015, Blood 126 (16): 1869-70).

Все еще существует острая потребность в комбинированном лечении, способном вызвать регрессию опухоли и/или ремиссию у пациентов, страдающих от опухолей, связанных с В-клетками, таких как FL и DLBCL.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к антителу против CD19 для применения при лечении неходжкинской лимфомы, экспрессирующей CD19 и, возможно, CD20, более конкретно, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), экспрессирующей CD19, или фолликулярной лимфомы (FL), экспрессирующей CD19, у нуждающегося в этом пациента.

В одном воплощении антитело включает CDR мышиных антител R005-1 или R005-2, чьи аминокислотные последовательности VH и VL изображены в следующей таблице:

	Аминокислотная последовательность VH	Аминокислотная последовательность VL
R005-1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 31
R005-2	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 35

В одном воплощении антитело включает CDR гуманизованного антитела IDD001 (результат гуманизации R005-1), чьи аминокислотные последовательности VH и VL изображены в следующей таблице. Более точно, последовательность VL per se представляет собой аминокислоты 1-103 в SEQ ID NO: 37, а последовательность VH per se представляет собой аминокислоты 1-121 в SEQ ID NO: 39.

	Аминокислотная последовательность тяжелой цепи	Аминокислотная последовательность легкой цепи
IDD001	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 37

В одном воплощении антитело включает вариант Fc-области IgG1 человека.

Этот вариант области включает аминокислотную замену в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 333, 396 Fc-области IgG1 человека. Эти аминокислотные остатки в области Fc пронумерованы в соответствии с системой нумерации Kabat. Это анти-CD19 антитело предназначено для лечения DLBCL или FL. DLBCL и FL, относящиеся к настоящему изобретению, представляют собой заболевания, чьи клетки экспрессируют CD19.

В одном воплощении антитело является афукозилированным.

В одном воплощении антитело является проапоптотическим.

В одном воплощении антитело включает вышеупомянутые CDR и одну из упомянутых выше вариантов Fc-областей IgG1 человека. Предпочтительно последовательности VH и VL являются гуманизованными, с человеческими каркасными областями и, возможно, изменениями в CDR. Это антитело может быть афукозилированным.

В предпочтительном воплощении эти антитела содержат CDR антитела R005-1, аминокислотные последовательности VH и VL которого имеют последовательность SEQ ID NO: 29, и, соответственно, SEQ ID NO: 31.

В предпочтительном воплощении последовательности VH и VL являются гуманизованными, в частности, они включают вышеупомянутые CDR и человеческие каркасные области или гуманизованные каркасные области. В еще более предпочтительном воплощении некоторые из CDR также могут быть гуманизованными, особенно как описано в данном документе далее для CDR1 и CDR2 последовательности VL. В типичном воплощении, имеющем гуманизованные каркасные области и CDR1 и CDR2 VL, антитело включает последовательности VH и VL, представленные в SEQ ID NO: 39 (ак 1-123) и 37 (ак 1-103). В предпочтительном воплощении антитело является IDD001, чья последовательность всей тяжелой цепи и всей легкой цепи представлена на фиг. 10 и на последовательностях SEQ ID NO: 39 и, соответственно, 37.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическому средству, содержащему анти-CD19 антитело по настоящему изобретению и подходящий фармацевтический носитель, для его применения при лечении неходжкинской лимфомы, экспрессирующей CD19 и, возможно, CD20, в частности, для его применения при лечении DLBCL или FL, экспрессирующей CD19 и, возможно, CD20.

В одном воплощении это анти-CD19 антитело предназначено для применения при лечении DLBCL, подтипа ABC, GCB и/или ABC/GCB. Более конкретно, это антитело предназначено для применения в комбинированной терапии с другим агентом, таким как химиотерапевтическое лекарственное средство. Например, химиотерапевтическое лекарственное средство может представлять собой алкалоид барвинка, в частности винкристин.

В другом воплощении это анти-CD19 антитело предназначено для применения при лечении FL. Более конкретно, это антитело предназначено для применения в комбинированной терапии с другим агентом, таким как моноклональное антитело. Например, моноклональное антитело может представлять собой анти-CD20 антитело, в частности ритуксан.

Настоящее изобретение также относится к набору или фармацевтической композиции, содержащей первую композицию, содержащую анти-CD19 антитело по настоящему изобретению и подходящий фармацевтический носитель, и вторую композицию, содержащую другое антитело или химиотерапевтическое лекарственное средство, как описано в настоящем документе, и подходящий фармацевтический носитель, в частности, для его применения при лечении неходжкинской лимфомы, экспрессирующей CD19 и, возможно, CD20, в частности, для его применения при лечении DLBCL или FL, экспрессирующих

CD19 и, возможно, CD20, где первая и вторая композиции предназначены для одновременного, раздельного или последовательного введения пациенту, нуждающемуся в этом.

Другим объектом изобретения является гуманизированное моноклональное анти-CD19 антитело, имеющее CDR антитела IDD001, как описано в данном документе, и более конкретно, имеющее последовательность VH 1-121 по SEQ ID NO: 39 и последовательность VL 1-103 по SEQ ID NO: 37. В одном воплощении это гуманизированное антитело включает вариант Fc-области IgG1 человека, где эта вариантная область предпочтительно включает аминокислотную замену в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 333, 396 Fc-области IgG1 человека, где нумерация аминокислотных остатков в Fc-области соответствует Kabat. Несколько воплощений будут представлены ниже. В одном воплощении гуманизированное моноклональное анти-CD19 антитело имеет тяжелую цепь SEQ ID NO: 39 и легкую цепь SEQ ID NO: 37. Эти гуманизированные антитела предназначены для лечения раков, особенно раков, экспрессирующих CD19.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения неходжкинской лимфомы, экспрессирующей CD19 и, возможно, CD20, в частности, для лечения DLBCL или FL, экспрессирующей CD19 и, возможно, CD20, где фармацевтическая композиция или набор, описанные в данном документе, вводятся в достаточном количестве пациенту.

Изобретение относится к способу лечения диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL) у нуждающегося в этом пациента, включающему введение эффективного количества фармацевтической композиции по изобретению или гуманизированного моноклонального анти-CD19 антитела, описанного в настоящем документе.

Изобретение также относится к способу лечения фолликулярной лимфомы (FL), включающему введение эффективного количества фармацевтической композиции по изобретению и эффективного количества моноклонального анти-CD20 антитела.

Изобретение также дополнительно относится к способу лечения фолликулярной лимфомы (FL) у пациента, нуждающегося в этом, включающему введение эффективного количества гуманизированного моноклонального анти-CD19 антитела, как описано в данном документе.

Изобретение также относится к способу лечения онкологического заболевания у пациента, нуждающегося в этом, включающему введение эффективного количества гуманизированного моноклонального анти-CD19 антитела, имеющего CDR антитела IDD001, как описано в данном документе, и, в частности, имеющего последовательность VH 1-121 из SEQ ID NO: 39 и последовательность VL 1-103 из SEQ ID NO: 37. В одном воплощении это гуманизированное антитело включает вариант Fc-области IgG1 человека, где эта вариантная область предпочтительно включает аминокислотную замену в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 333, 396 Fc-области IgG1 человека, где нумерация аминокислотных остатков в Fc-области соответствует Kabat. Несколько воплощений будут представлены ниже. В одном воплощении гуманизированное моноклональное анти-CD19 антитело имеет тяжелую цепь SEQ ID NO: 39 и легкую цепь SEQ ID NO: 37. В частности, рак экспрессирует CD19.

Подробное описание изобретения

Анти-CD19 антитело.

CD19 представляет собой 95 кДа трансмембранный гликопротеин I типа, экспрессируемый в В-клетках и фолликулярных дендритных клетках и не экспрессируемый в стволовых клетках, в пре-В-клетках и в нормальных миелоидных клетках. Экспрессия CD19 в В-клетках начинается на стадии пре-В-клеток и сохраняется в течение всей их дифференцировки в плазматические клетки. Как часть В-клеточного рецептора (BCR), CD19 участвует в регуляции активации В-клеток и индукции гуморального иммунитета. Важно отметить, что CD19 экспрессируется в подавляющем большинстве случаев опухолей, связанных с В-клетками, и экспрессия сохраняется на протяжении развития опухоли. Моноклональные анти-CD19 антитела, имеющие модифицированный Fc из IgG1 человека, были раскрыты в WO 2012/1999. Это раскрытие дополнительно предоставляет химерные, гуманизированные и человеческие анти-CD19 антитела, гибридные белки с анти-CD19 антителом и их фрагменты.

Более конкретно, изобретение относится к антителу против CD19, включающему

(i) CDR одного из антител R005-1, R005-2 или IDD001, чьи аминокислотные последовательности VH и VL представлены в таблице ниже

	Аминокислотная последовательность VH	Аминокислотная последовательность VL
R005-1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 31
R005-2	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 35
IDD001	1-121 SEQ ID NO: 39	1-103 SEQ ID NO: 37

(2i) вариант Fc-области IgG1 человека, где эта вариантная область включает аминокислотную замену в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 333, 396 Fc-области IgG1 человека, где нумерация аминокислотных остатков в Fc-области соответствует Kabat, для применения при лечении диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL) или фолликулярной лимфомы (FL), клетки которых экспрессируют CD19.

В одном воплощении Fc-область модифицирована в каждом из аминокислотных положений Phe243, Arg292, Tyr300, Val305, Lys326 и Pro396 (Kabat) Fc-области IgG1 человека.

Согласно изобретению в модифицированной Fc-области из IgG1 Phe243 замещен Leu, Trp, Arg, Ile, Ala или Gln; Arg292 замещен Pro, Ala или Gly; Tyr300 замещен Leu, Lys, Phe, Ala или Ile; Val305 замещен Leu, Ala или Ile; Lys326 замещен Ala, Val, Glu, Asp, Met, Ser, Asn или Trp; Pro396 замещен Leu, Ala или Ile.

Согласно изобретению эта Fc-область имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1 (Fc34). Нуклеиновая кислота, кодирующая эту Fc-область, представлена в SEQ ID NO: 2.

В другом воплощении Fc-область модифицирована в каждом из аминокислотных положений Phe243, Arg292, Tyr300, Val305, Lys326, Glu333 и Pro396 (Kabat) Fc-области из IgG1 человека.

Согласно изобретению в модифицированной Fc-области Fc IgG1 Phe243 замещен Leu, Trp, Tyr, Arg, Ile, Ala или Gln; Arg292 замещен Pro, Ala или Gly; Tyr300 замещен Leu, Lys, Phe, Ala или Ile; Val305 замещен Leu, Ala или Ile; Lys326 замещен Ala, Val, Glu, Asp, Met, Ser, Asn или Trp; Pro396 замещен Leu, Ala или Ile, а Glu333 замещен Val, Gly, Ala, Gln, Asp, Asn, Lys, Arg или Ser.

Согласно данному изобретению эта Fc-область имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3 (Fc24). Нуклеиновая кислота, кодирующая эту Fc-область, представлена в SEQ ID NO: 4. Вариантом является так называемая Fc39-область, имеющая одно отличие от Fc24, например, Val305 замещен Ile.

В одном воплощении антитело включает аминокислотные последовательности VH и VL, представленные в таблице ниже:

	Аминокислотная последовательность VH	Аминокислотная последовательность VL
mR005-1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 31
mR005-2	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 35
IDD001	1-121 по SEQ ID NO: 39	1-103 на SEQ ID NO: 37

В предпочтительном воплощении антитело включает CDR антитела mR005-1, аминокислотные последовательности VH и VL которого имеют последовательность SEQ ID NO: 29, и, соответственно, SEQ ID NO: 31, или антитело включает аминокислотные последовательности VH и VL последовательности SEQ ID NO: 29, и, соответственно, SEQ ID NO: 31. Это антитело может включать) вариант Fc-области из IgG1 человека, где эта вариантная область включает аминокислотную замену в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 396. или 243, 292, 300, 305, 326, 333, 396 Fc-области IgG1 человека, как описано в данном документе. Указанное антитело может быть афукозилированным.

В предпочтительном воплощении последовательности VH и VL являются гуманизированными, в частности, они включают вышеупомянутые CDR и человеческие каркасные области или гуманизированные каркасные области. В типичном воплощении антитело включает последовательности VH и VL, представленные на фиг. 10, и в SEQ ID NO: 39 (VH) и 37 (VL).

CDR анти-CD19 антитела R005-1 по изобретению представляют собой:

	SEQ ID NO:	Последовательность IMGT	SEQ ID NO:	Последовательность Kabat	SEQ ID NO:	Последовательность (Общая система нумерации)
VHmR005-1						
CDR1	5	GYAFSSYW	11	SYWVN	16	SSYW
CDR2	6	IYPGDGDT	12	QIYPGDGDTNYNGKFKG	6	IYPGDGDT
CDR3	7	ARSITTVVGCAMDY	13	SITTVVGCAMDY	13	SITTVVGCAMDY
VLmR005-1						
CDR1	8	DHINNW	14	KASDHINNWLA	8	DHINNW
CDR2	9	GAT	15	GATTLET	9	GAT
CDR3	10	QQSWNTPWT	10	QQSWNTPWT	10	QQSWNTPWT

CDR анти-CD19 антитела R005-2 по изобретению представляют собой:

	SEQ ID N:	Последовательность IMGT	SEQ ID NO:	Последовательность Kabat	SEQ ID NO:	Последовательность (Общая система нумерации)
VHmR005-2						
CDR1	17	GYTFTSYV	23	SYVMH	28	TSYV
CDR2	18	VNPYNDGT	24	YVNPYNDGTYNEKF KG	18	VNPYNDGT
CDR3	19	ARGPYYYGSSPFYD	25	GPYYYGSSPFYD	25	GPYYYGSSPFYD
VLmR005-2						
CDR1	20	QSLNSNGNTY	26	RSSQSLNSNGNTYLN	20	QSLNSNGNTY
CDR2	21	RVS	27	RVSNRFS	21	RVS
CDR3	22	LQVTHVPPT	22	LQVTHVPPT	22	LQVTHVPPT

CDR гуманизированного анти-CD19 антитела IDD001 по изобретению такие же, как и у R005-1, за исключением CDR1 и CDR2 цепи VL:

	SEQ ID NO:	Последовательность IMGT	SEQ ID NO:	Последовательность Kabat	SEQ ID NO:	Последовательность (Общая система нумерации)
VH IDD001						
CDR1	5	GYAFSSYW	11	SYWVN	16	SSYW
CDR2	6	IYPGDGDT	12	RIYPGDGDNYAQKFQG	6	IYPGDGDT
CDR3	7	ARSITTVVGCAMDY	13	SITTVVGCAMDY	13	SITTVVGCAMDY
VL IDD001						
CDR1	41	QSINNW	42	KASQSINNWLA	41	QSINNW
CDR2	43	ГАЗ	44	GASTLES	43	ГАЗ
CDR3	10	QQSWNTPWT	10	QQSWNTPWT	10	QQSWNTPWT

По определению, эти CDR включают вариантные CDR, полученные путем делеции, замены или добавления одной или нескольких аминокислот, если этот вариант сохраняет специфичность исходного CDR. Система общей нумерации обеспечивает определение CDR, имеющего самые короткие аминокислотные последовательности, или определение минимального CDR.

В одном воплощении антитело включает CDR, последовательность которых представлена в SEQ ID NO: 16, 6, 13 и/или 8, 9, 10. В одном воплощении антитело включает CDR, последовательность которых представлена в SEQ ID NO: 5, 6, 7 и/или 8, 9, 10. В одном воплощении антитело включает CDR, последовательность которых представлена в SEQ ID NO: 11, 12, 13 и/или 14, 15, 10. В одном воплощении антитело включает CDR, последовательность которых представлена в SEQ ID NO: 28, 18, 25 и/или 20, 21, 22. В одном воплощении антитело включает CDR, последовательность которых представлена в SEQ ID NO: 17, 18, 19 и/или 20, 21, 22. В одном воплощении антитело включает CDR, последовательность которых представлена в SEQ ID NO: 23, 24, 25 и/или 26, 27, 22. В одном воплощении антитело включает CDR, последовательность которых представлена в SEQ ID NO: 17, 18, 19 и/или 20, 21, 22. В одном воплощении антитело включает CDR, последовательность которых представлена в SEQ ID NO: 23, 24, 25 и/или 26, 27, 22.

В одном воплощении антитело включает CDR, последовательность которых представлена в SEQ ID NO: 5, 6, 7 и/или 41, 43, 10. В одном воплощении антитело включает CDR, последовательность которых представлена в SEQ ID NO: 11, 12, 13 и/или 42, 44, 10. В одном воплощении антитело включает CDR, последовательность которых представлена в SEQ ID NO: 16, 6, 13 и/или 41, 43, 10.

В соответствии с признаком, анти-CD19 антитела по изобретению продуцировались в клетках млекопитающих, что, вместе с мутированной областью по изобретению, приводит к нефукозилированному или афукозилированному антителу по изобретению. Клетка млекопитающего может быть клеткой дикого типа. Это может быть клетка грызунов, в частности клетка CHO. Клетка грызуна может быть дикого типа, такой как, в частности, CHO дикого типа. Антитела имеют профиль гликозилирования в результате их продуцирования в этой клетке. Дикий тип используется в его обычном значении, скажем, относится к фенотипу типичной формы вида, встречающейся в природе.

В частности, из трансфицированных клеток, например, из CHO дикого типа, изобретение позволяет экспрессировать рекомбинантные антитела, несущие общую N-связанную олигосахаридную структуру биантеннарного типа, которая содержит длинные цепи с концевым GlcNac, которые являются галактозилированными и нефукозилированными. В соответствии с предпочтительным признаком моноклональное антитело имеет низкий уровень фукозы, как описано в WO 2012/010562.

В одном воплощении анти-CD19 антитело способно генерировать ADCC, но не CDC. Примером антитела, имеющего этот профиль, является антитело, имеющее вариантную Fc-область IgG1 человека, содержащую аминокислотную замену в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 396. Такое антитело было описано в US 9120856, включенном в данный документ ссылкой.

В другом воплощении анти-CD19 антитело способно генерировать активность CDC и ADCC. Примерами антител, имеющих этот профиль, являются антитела, имеющие вариантную Fc-область IgG1 человека, содержащую аминокислотную замену в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 326, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 333, 396. Такие антибактериальные препараты описаны в WO 2012/010562.

В одном воплощении эти антитела, имеющие переменные области, описанные в данном документе, запускают запрограммированную гибель клеток или апоптоз.

В одном воплощении эти антитела включают один Fab, содержащий CDR или области VH и VL R005-1, R005-2 или IDD001 и тому подобное, и один Fab, специфичный к другому опухолевому антигену, особенно антигену на раковой В-клетке, раскрытому ниже, например, CD20.

Анти-CD20 антитела.

Комбинированная терапия, описанная в данном документе, может дополнительно включать анти-CD20 антитела.

Любое подходящее анти-CD20 антитело может быть использовано в соответствии со способами и композициями, описанными в данном документе. Подходящие анти-CD20 антитела включают, например, известные анти-CD20 антитела, коммерчески доступные анти-CD20 антитела или анти-CD20 антитела, разработанные с использованием способов, хорошо известных в данной области.

Примеры антител, которые связывают антиген CD20, включают: "C2B8", который теперь называется "ритуксимаб" ("RITUXAN™"); мышинное антитело 2B8, меченное иттрием [90], обозначенное как "Y2B8" или "ибритумомаб тиуксетан" (ZEVALIN™) (Патент США № 5736137, специально включенный в данный документ ссылкой); IgG2a мыши "B1", также называемый "тозитумомаб" (Beckman Coulter), необязательно меченный 131I, для получения антитела "131I-B1" (йод 131, тозитумомаб, BEXXAR™) (Патент США № 5595721, специально включенный в данный документ ссылкой); мышинное моноклональное антитело "1F5" (Press et al. Blood 69 (2): 584-591 (1987) и его варианты, включая "исправленный каркас" или гуманизированное 1F5 (WO 03/002607, Leung, S.); Депозит ATCC HB-96450; мышинное 2H7 и химерное 2H7 антитело (Патент США № 5677180, специально включенный в данный документ ссылкой); гуманизированное 2H7; huMax-CD20 (Genmab, Дания); АМЕ-133 (Applied Molecular Evolution); Антитело A20 или его варианты, такие как химерное или гуманизированное антитело A20 (сA20, hA20, соответственно) (US 2003/0219433, Immunomedics); и моноклональные антитела L27, G28-2, 93-1B3, B-CI или NU-B2, представленные на Международной конференции по типированию лейкоцитов (Valentine et al., In: Leukocyte Typing III (McMichael, Ed., p.440, Oxford University Press (1987)). В примерном воплощении в способах и композициях по настоящему изобретению используется ритуксимаб или его антигенсвязывающий фрагмент в сочетании с анти-CD19 антителом или его фрагментом.

Полные последовательности нуклеиновых кислот и аминокислот для вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи или ритуксимаба раскрыты в патенте США № 5736137. В частности, последовательности нуклеиновых кислот и аминокислот для вариабельной области легкой цепи ритуксимаба раскрыты на фиг. 4 и в SEQ ID NO: 6 в патенте США № 5736137. Последовательность нуклеиновой кислоты и аминокислоты для вариабельной области тяжелой цепи ритуксимаба раскрыта на фиг. 5 и в SEQ ID NO: 9 в патенте США № 5736137. Последовательности нуклеиновых кислот и аминокислот SEQ ID NO: 6 и 9 и фиг. 4 и 5 в патенте США № 5736137 специально включены в данный документ ссылкой. Ритуксимаб также может быть получен с помощью трансфектомы клеток CHO, содержащей векторную ДНК, присутствующую в клетке-хозяине E.coli, депонированную в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под учетным номером 69119. Ритуксимаб также может быть получен из гибридомы 2B8, которая депонирована в ATCC под учетным номером HB 11388.

Анти-CD20 антитело также может представлять собой моноклональное человеческое, гуманизированное или химерное анти-CD20 антитело. Антитела против CD20, используемые в композициях и способах раскрытия, могут представлять собой "голые" антитела, иммуноконъюгаты или гибридные белки. В некоторых воплощениях анти-CD20 антитело по изобретению может опосредовать человеческую антитело-зависимую клеточную цитотоксичность (ADCC), комплемент-зависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (CDC) и/или апоптоз в количестве, достаточном для истощения циркулирующих В-клеток. В иллюстративных воплощениях анти-CD20 антитело по изобретению представляет собой анти-CD20 антитело, которое было разработано так, чтобы иметь повышенную активность ADCC по сравнению с исходным антителом. Способы создания вариантов антител, обладающих повышенной активностью ADCC, описаны выше. В некоторых воплощениях анти-CD20 антитело по изобретению представляет собой афукозилированное антитело, обладающее повышенной активностью ADCC.

Химиотерапевтические агенты.

Другими примерами агентов, применяемых для лечения онкологических заболеваний, являются агенты для таргетной терапии. Эти агенты препятствуют росту опухоли, нарушая специфические молекулярные механизмы, которые участвуют в инициации и/или прогрессировании опухоли. Агенты для целевой терапии представляют собой небольшие молекулы или антитела и обычно классифицируются в соответствии с молекулярной мишенью. Примерами молекулярных мишеней таргетной терапии являются белки, участвующие в передаче сигналов клетки, апоптозе, транскрипции генов, репарации ДНК, прогрессии и/или контрольной точке клеточного цикла, ангиогенезе, инвазии и метастазировании.

Направленное воздействие на CD19 с помощью антитела по настоящему изобретению в сочетании с существующими химиотерапевтическими методами лечения будет более эффективным при уничтожении опухолевых клеток, чем химиотерапия отдельно. В химиотерапии онкологических заболеваний использовалось большое разнообразие лекарственных средств.

Химиотерапевтические агенты могут быть классифицированы по группам в зависимости от способа их действия. Ниже приводится неисчерпывающий список классов химиотерапии: алкилирующие агенты (например, циклофосфамид), антрациклины (например, доксорубин), разрушители цитоскелета (например, паклитаксел), эпотилоны (например, ибксабепилон), ингибиторы гистондеацетилазы (например, вориностат), ингибиторы топоизомеразы (например, иринотекан), ингибиторы киназ (например, иматиниб), нуклеотидные аналоги и аналоги-предшественники (например, азациитидин), пептидные антибиотики (например, блеомицин), агенты на основе платины (например, цисплатин), ретиноиды (например, третиноин), алкалоиды барвинка и производные (например, винкристин).

Другие агенты, используемые для терапии онкологических заболеваний, обычно классифицируемые как агенты для гормональной терапии, включают гормоны, ингибиторы синтеза гормонов, антагонисты рецепторов гормонов.

В одном подходе лечение антителом или режим, включающий комбинацию, по меньшей мере, двух антител, добавляют к стандартному режиму химиотерапии при лечении больного с онкологическим заболеванием. В воплощении дополнительное моноклональное антитело направлено против антигена злокачественной В-клетки или лимфоцита, такого как CD20.

Для тех комбинаций, в которых антитело и дополнительный(ые) противоопухолевый(ые) агент(ы) оказывают синергетический эффект против раковых клеток, дозировка дополнительного(ых) агента(ов) может быть уменьшена по сравнению со стандартной дозировкой второго агента при введении отдельно. Антитело можно вводить совместно с количеством противоопухолевого лекарственного средства, которое эффективно для повышения чувствительности раковых клеток.

В одном способе по изобретению направленное воздействие на CD19 и CD20 комбинацией антител или биспецифическим антителом осуществляется путем их введения пациенту до введения химиотерапевтического агента. Один альтернативный способ включает введение химиотерапевтического агента перед введением комбинации антител или биспецифического антитела и химиотерапевтического агента по альтернативной схеме. В другом воплощении комбинацию антител или биспецифическое антитело и химиотерапевтический агент вводят одновременно.

Таким образом, настоящее изобретение охватывает применение биспецифического или поливалентного моноклонального антитела, направленного на CD19, и другого антигена, экспрессируемого раковыми В-клетками, особенно CD20. Это антитело включает Fab, специфичный к CD19, и Fab, специфичный к другой мишени. В частности, Fab, специфичный к CD19, содержит области VH и VL, как раскрыто в данном документе, определяемые CDR или целыми областями VH и VL R005-1, R005-2 или, предпочтительно, IDD001. В случае, когда биспецифическое антитело также нацелено на CD20, можно использовать в дополнение к Fab, специфичному к CD19, как описано в данном документе, Fab из любого моноклонального анти-CD20 антитела, раскрытого выше, например, из ритуксана. Предпочтительно, биспецифическое антитело включает Fc из IgG1 человека, особенно Fc, мутированный, как описано в данном документе, такой как Fc24, Fc34 или Fc39. Такое биспецифическое антитело также охватывается настоящим изобретением моноклональными антителами и также является объектом изобретения.

Способ по изобретению может предусматривать включение в терапевтический режим, включающий применение, по меньшей мере, одного другого способа лечения, такого как облучение, химиотерапия с использованием низкомолекулярного вещества или антитела. Способ по изобретению может напрямую включать введение достаточного количества, по меньшей мере, одного дополнительного антитела, направленного против другой мишени, и/или, по меньшей мере, одного химиотерапевтического лекарственного средства (такого как низкомолекулярное вещество), для одновременного, раздельного или последовательного введения антитела (антител) по изобретению млекопитающему, включая человека. Эта комбинация в целом полезна для раков (в частности, агрессивных раков), которые плохо реагируют на лечение одним лекарственным средством или только антителами/антителом по изобретению и для которых комбинация приводит к синергетическому эффекту.

Модификации и изменения антител.

В структуре полипептида по настоящему изобретению могут быть сделаны модификации и изменения, при этом с получением молекулы, имеющей сходные характеристики. Другими словами, эти модификации и изменения находятся в компетенции специалиста в данной области. Например, некоторые аминокислоты могут быть заменены другими аминокислотами в последовательности без заметной потери активности. Поскольку именно интерактивная способность и природа полипептида определяют биологическую функциональную активность этого полипептида, определенные замены аминокислотной последовательности могут быть сделаны в полипептидной последовательности (или, конечно, в ее основной кодирующей последовательности ДНК) при этом с получением полипептида, имеющего сходные характеристики.

Основываясь на своих общих знаниях об аминокислотах, специалист в данной области способен, в том числе путем рутинных экспериментов методом проб и ошибок, определить аминокислоты и положения, которые могут быть удалены, добавлены или заменены без существенного изменения функциональности Fc-области или любой другой части антитела, включая домен связывания.

Все из числа замены Phe243 на Leu, Trp, Tyr, Arg, Ile, Ala или Gln; замены Arg292 на Pro, Ala или Gly; замены Tyr300 на Leu, Lys, Phe, Ala или Ile; замены Val305 на Leu, Ala или Ile; замены Lys326 на Ala, Val, Glu, Asp, Met, Ser, Asn или Trp; замены Pro396 на Leu, Ala или Ile и замены Glu333 на Val, Gly, Ala, Gln, Asp, Asn, Lys, Arg, Ala или Ser, были проанализированы одна за другой в моноклональном антителе chr005-1 Fc24 и были подтверждены как приемлемые замены для обеспечения ADCC цельной крови и CDC в сыворотке человека.

Антитела по изобретению могут представлять собой моноклональное антитело, химерное антитело, гуманизированное антитело, полноразмерное антитело человека, биспецифическое антитело (например, против CD19 и CD20), ассоциативное MAб, композицию поливалентного антитела, конъюгат лекарственное средство-антитело или фрагмент антитела, по меньшей мере, с одним или двумя видами. "Гуманизированное антитело" или "химерное гуманизированное антитело" должно означать антитело, полученное из нечеловеческого антитела, обычно мышинного антитела, которое сохраняет или в значительной

степени сохраняет антигенсвязывающие свойства родительского антитела, но которое является менее иммуногенным для человека.

Способы получения антител известны специалисту в данной области.

Для получения анти-CD19 антитела по изобретению клетки млекопитающих, предпочтительно клетки грызунов, такие как клетки СНО, предпочтительно клетки дикого типа (например, клетки СНО дикого типа), могут быть трансфицированы одним или несколькими экспрессирующими векторами. Предпочтительно клетки можно совместно трансфицировать экспрессирующим вектором для легкой цепи и экспрессирующим вектором для тяжелой цепи. Для получения антител, полезных в изобретении, специалист в данной области может обратиться к WO 2012/010562, который включен в данный документ ссылкой.

Комбинированная терапия.

Используемый в данном документе термин "комбинация" используется в самом широком смысле и означает, что объект лечится, по меньшей мере, двумя схемами лечения. Используемый в данном документе термин "лекарственные средства" может включать антитело и химиотерапевтический агент.

Таким образом, "комбинированная антителая терапия" для лечения FL предназначена для обозначения того, что объекта лечат, по меньшей мере, двумя схемами приема лекарственного средства, более конкретно, по меньшей мере, одним анти-CD20 антителом в комбинации, по меньшей мере, с одним анти-CD19 антителом, но время введения различных схем антител может варьировать до тех пор, пока достигается положительный эффект комбинации этих антител. Лечение анти-CD20 антителом в комбинации с анти-CD19 антителом может проводиться одновременно (например, одновременно или параллельно) или в разное время (например, последовательно или секвенциально) или их комбинацией.

Кроме того, "комбинированная терапия" для лечения DLBCL подразумевает, что объекта лечат, по меньшей мере, двумя схемами приема лекарственного средства, более конкретно, по меньшей мере, одним химиотерапевтическим средством, например винкристином, в комбинации, по меньшей мере, с одним анти-CD19 антителом, но сроки введения различных схем лечения могут варьировать до тех пор, пока достигается положительный эффект от комбинации этих лекарственных средств. Лечение химиотерапевтическим средством, например, винкристином в комбинации с анти-CD19 антителом может быть в одно и то же время (например, одновременно или параллельно) или в разное время (например, последовательно или секвенциально) или их комбинацией.

Для целей настоящего раскрытия введение в одно и то же время (например, одновременно) относится к введению лекарственных средств вместе в одной и той же композиции или в отдельных композициях, где введение может быть с интервалом от нескольких минут до нескольких часов, но не более одного дня. Используемый в данном документе термин "введение в разное время (например, последовательно)" относится к введению лекарственных средств комбинированной терапии с интервалом от нескольких часов до дней, недель и даже месяцев.

Следовательно, в определенных воплощениях объект, подвергающийся комбинированной терапии, может получать оба лекарственных средства в одно и то же время (например, одновременно) или в разное время (например, секвенциально, в любом порядке, в тот же день или в разные дни), при условии, что терапевтический эффект комбинации обоих лекарственных средств вызывается у объекта, подвергающегося терапии. В некоторых воплощениях комбинация лекарственных средств будет вводиться одновременно для одной дозировки, но другие дозировки будут включать последовательное введение, в любом порядке, в тот же день или в разные дни. Когда два лекарственных средства вводят одновременно, то их можно вводить в виде отдельных фармацевтических композиций, каждая из которых содержит либо лекарственное средство из комбинации, либо их можно вводить в виде одной фармацевтической композиции, содержащей оба этих лекарственных средства.

Терапевтическая активность.

Реакцию опухоли также можно оценивать на предмет изменения морфологии опухоли (например, общей массы опухоли, размера опухоли и т.п.) или исчезновения опухоли с использованием обычных методов, имеющихся в распоряжении клиницистов и лабораторий, например, методов скрининга, таких как сканирование для магнитно-резонансной визуализации (MBS), рентгенография, компьютерная томография (СТ), проточная цитометрия или клеточная сортировка с активацией флуоресценции (FACS), биолуминесцентная визуализация, например, люциферазная визуализация, визуализация сканирования костей скелета и забор биопсии опухолей, включая аспирацию костного мозга (BMA). Способы по изобретению включают применение комбинированной терапии, которая дает положительный терапевтический ответ в объекте, нуждающемся в лечении В-клеточных заболеваний, таких как FL и DLBCL. Положительный терапевтический ответ в отношении комбинированного лечения с использованием анти-CD20 антитела и анти-CD19 антитела (например, для лечения FL) или с использованием анти-CD19 антитела и химиотерапевтического агента, такого как винкрестин (например, для лечения DLBCL), предназначен для обозначения улучшения заболевания в связи с противоопухолевой активностью этих лекарственных средств и/или улучшения симптомов, связанных с заболеванием. Таким образом, можно наблюдать антипролиферативный эффект, предотвращение дальнейшего роста опухоли, уменьшение размера опухоли, уменьшение количества раковых клеток и/или уменьшение одного или нескольких симптомов,

опосредованных неопластическими В-клетками. Так, например, улучшение при заболевании можно охарактеризовать как полный ответ.

Комбинированная терапия предпочтительно будет вызывать регресс или ремиссию неходжкинской лимфомы, экспрессирующей CD19, в частности FL или DLCL, экспрессирующих CD19. Комбинированная терапия может также вызывать терапевтический эффект, в том числе гибель клеток или апоптоз, на неходжкинскую лимфому, экспрессирующую CD19, которые устойчивы к текущему лечению антителами и/или химиотерапии, таким как некоторые DLCL, например, подтипа ABC.

Термин "регрессия" означает уменьшение размера опухолевой массы; уменьшение метастатической инвазивности опухоли; снижение скорости роста опухоли; повышенная выживаемость пациентов; и/или увеличение наблюдаемых клинических коррелятов улучшенного прогноза, таких как увеличение инфильтрации опухоли лимфоцитами и уменьшение васкуляризации опухоли; и т.п. Регрессия может рассматриваться как "частичный ответ", скажем, по меньшей мере, на около 50% снижение всей измеряемой опухолевой нагрузки (например, количества опухолевых клеток, присутствующих у объекта) при отсутствии новых поражений и поддержание в течение, по меньшей мере, одного месяца.

Термин "ремиссия" означает, что опухоль или опухолевые клетки больше не выявляются. Ремиссия может рассматриваться как "полный ответ", например, отсутствие клинически выявляемого заболевания с нормализацией любых ранее аномальных рентгенографических исследований, костного мозга и спинномозговой жидкости (CSF). Такой ответ должен сохраняться в течение, по меньшей мере, одного месяца после лечения в соответствии со способами раскрытия.

Комбинация по изобретению может быть использована в качестве "терапевтической композиции" для ингибирования роста раковых клеток млекопитающих, особенно человека, в качестве комбинированной терапии и/или в дополнительной комбинации с лучевой терапией. Эффективное количество терапевтической композиции вводят предпочтительно для ингибирования или реверсии прогрессирования раков, которые экспрессируют CD19, или иным образом приводят к статистически значимому увеличению ремиссии или выживаемости без прогрессирования (т.е. продолжительности периода во время и после лечения, в течение которого пациент живет с указанным таргетным онкологическим заболеванием, то есть DLCL или FL, которое не ухудшается), или общей выживаемостью (также называемой "коэффициентом выживаемости", то есть процентом людей в группе исследования или лечения, которые живы на определенный период времени после того, как они были диагностированы или прошли лечение от онкологического заболевания) по сравнению с контролем.

Фармацевтические композиции.

Лекарственные средства, используемые в настоящей комбинированной терапии, вводят в терапевтически эффективной дозе. Термин "терапевтически эффективная доза", "терапевтически эффективное количество" или "эффективное количество" предназначен для обозначения количества анти-CD19 антитела, которое при введении в сочетании с количеством анти-CD20 антителом (например, при лечении FL) или химиотерапевтическим средством (например, при лечении DLCL) вызывает положительный терапевтический ответ в отношении лечения у объекта онкологического заболевания, включающего неопластические В-клетки, такого как FL и DLCL. В некоторых воплощениях терапевтически эффективная доза каждого лекарственного средства находится в диапазоне от около 0,1 мг/кг до около 200 мг/кг, например от около 1 мг/кг до около 100 мг/кг. В некоторых воплощениях дозировка может составлять 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25 или 30 мг/кг. Изобретение обеспечивает комбинированную терапию или схему лечения, по меньшей мере, двумя различными антителами или, по меньшей мере, одним антителом и, по меньшей мере, одним химиотерапевтическим агентом. В результате этого эффективная терапевтическая доза одного лекарственного средства (антитела или химиотерапевтического агента), необходимая для данного терапевтического эффекта, может быть ниже, чем при использовании отдельно, поэтому приведенные низкие значения дозировки (например, равные или меньшие, чем 60 мг/кг) могут быть достаточным количеством, например 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25 или 30 мг/кг.

Такие "терапевтически эффективная доза", "терапевтически эффективное количество" или "эффективное количество" могут обычно определять специалисты в данной области. Количество фактически вводимого соединения, как правило, будет определяться врачом в свете соответствующих обстоятельств, включая состояние, подлежащее лечению, выбранный путь введения, фактическое введенное соединение, возраст, массу и реакцию индивидуального пациента, тяжесть симптомов пациента и т.д. Специалистам в данной области также должно быть понятно, что дозировка может зависеть от стабильности вводимого пептида.

Фармацевтические композиции можно вводить инъекцией, то есть внутривенно, внутримышечно, внутрикожно, подкожно, интрадуоденально или внутрибрюшинно. Другие фармацевтические системы доставки также могут быть использованы, например, липосомы.

Моноклональное анти-CD19 антитело по настоящему изобретению можно вводить до и/или после (в совокупности "последовательное лечение") и/или одновременно ("одновременное лечение") специфического второго моноклонального антитела или химиотерапевтического агента по настоящему изобретению. Последовательное лечение (такое как предварительное лечение, последующее лечение или перекрывающееся лечение) комбинацией также включает схемы, в которых лекарственные средства череду-

ются или когда один компонент вводят длительно, а другой (и) вводят периодически. Компоненты комбинации могут вводиться в одной и той же или в отдельных композициях и одинаковыми или разными путями введения.

Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтическую композицию по настоящему изобретению, может включать материалы рецептуры для модификации, поддержания или сохранения, например, pH, осмолярности, вязкости, прозрачности, цвета, изотоничности, запаха, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, адсорбции или проникновения композиции. Первичные среда или носитель в фармацевтической композиции по природе могут быть водными или неводными. Например, подходящими средой или носителем может быть вода для инъекций или физиологический раствор, возможно, дополненные другими материалами, обычными в композициях для парентерального введения. Нейтральный забуференный солевой раствор или солевой раствор, смешанный с сывороточным альбумином, являются еще одним примером носителей. Другие типичные фармацевтические композиции содержат трис-буфер с pH около 7,0-8,5 или ацетатный буфер с pH около 4,0-5,5, который может дополнительно включать сорбит или его подходящий заменитель. В одном воплощении настоящего изобретения композиции связующего агента могут быть приготовлены для хранения путем смешивания выбранной композиции, имеющей желаемую степень чистоты, с необязательными препаратами для формулирования (Remington's Pharmaceutical Sciences, выше) в форме лиофилизированной таблетки или водного раствора. Кроме того, продукт связующего агента может быть составлен в виде лиофилизата с использованием подходящих наполнителей, таких как сахароза.

Компоненты состава присутствуют в концентрациях, которые являются приемлемыми для участка введения. Например, буферы используются для поддержания композиции при физиологическом pH или немного более низком pH, обычно в диапазоне pH от около 5 до около 8. Особенно подходящим носителем для парентерального введения является стерильная дистиллированная вода, в которой связующий агент составлен в виде стерильного изотонического раствора, должным образом сохраненного. Еще один препарат может включать состав желаемой молекулы с длительно действующим агентом, который обеспечивает контролируемое или замедленное высвобождение продукта, который затем может быть доставлен с помощью депонирующей инъекции (такой как инъекцируемые микросферы, биоразрушаемые частицы, полимерные соединения (полимолочная кислота, полигликолевая кислота), гранулы или липосомы).

В другом аспекте фармацевтические составы, подходящие для парентерального введения, могут быть составлены в водных растворах, предпочтительно в физиологически совместимых буферах, таких как раствор Хенкса, раствор Рингера или физиологически забуференный солевой раствор. Водные инъекционные суспензии могут содержать вещества, которые увеличивают вязкость суспензии, такие как натрий-карбоксиметилцеллюлоза, сорбит или декстран. Специалистам в данной области будут очевидны дополнительные фармацевтические композиции, включая составы, содержащие молекулы связывающего агента в составах с замедленной или контролируемой доставкой.

Специалистам в данной области техники также известны методы составления множества других средств непрерывной или контролируемой доставки, таких как липосомные носители, биоразрушаемые микрочастицы или пористые гранулы и депонирующие инъекции. Фармацевтическая композиция для применения *in vivo* обычно должна быть стерильной. Это может быть достигнуто путем фильтрации через стерильные фильтрующие мембраны. Если композиция лиофилизирована, стерилизация с использованием этого способа может проводиться либо до, либо после лиофилизации и восстановления. Композиция для парентерального введения может храниться в лиофилизированной форме или в растворе. Кроме того, парентеральные композиции обычно помещают в контейнер, имеющий стерильный порт доступа, например, мешок для внутривенного раствора или флакон, имеющий пробку, прокалываемую иглой для подкожных инъекций.

Как только фармацевтическая композиция составлена, ее можно хранить в стерильных флаконах в виде раствора, суспензии, геля, эмульсии, твердого вещества или дегидратированного или лиофилизированного порошка. Такие составы могут храниться либо в готовой к употреблению форме, либо в форме (например, лиофилизированной), требующей восстановления перед введением.

Для любого соединения терапевтически эффективная доза может быть первоначально оценена либо в анализах на клеточных культурах, либо на животных моделях, таких как мыши, крысы, кролики, собаки, свиньи или обезьяны. Животную модель также можно использовать для определения подходящего диапазона концентраций и пути введения. Такая информация может затем использоваться для определения полезных доз и путей введения людям. Точная дозировка будет определяться в свете факторов, связанных с объектом, нуждающимся в лечении. Дозировка и введение корректируются для обеспечения достаточных уровней активного соединения или для поддержания желаемого эффекта. Факторы, которые могут быть приняты во внимание, включают серьезность болезненного состояния, общее состояние здоровья объекта, возраст, массу и пол объекта, время и частоту введения, комбинацию (комбинации) лекарственных средств, чувствительность к реакции и реакцию к терапии. Фармацевтические композиции длительного действия можно вводить каждые 3-4 дня, каждую неделю или раз в две недели в зависимости от периода полувыведения и скорости выведения конкретного состава. Частота дозирования будет зависеть от фармакокинетических параметров молекулы в используемой композиции. Как прави-

ло, композицию вводят до тех пор, пока не будет достигнута дозировка, которая достигает желаемого эффекта. Поэтому композицию можно вводить в виде одной дозы или в виде нескольких доз (в одинаковых или разных концентрациях/дозировках) с течением времени или в виде непрерывной инфузии. Дальнейшее уточнение соответствующей дозировки производится регулярно. Подходящие дозы могут быть определены путем использования соответствующих данных доза-ответ.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1. Нуклеотидная и аминокислотная последовательности мышинных MAб R005-1 и MAб R005-2, (A): VH (B): VL. Аминокислоты показаны в виде однобуквенных кодов.

	Аминокислотная последовательность VH	Нуклеотидная последовательность VH	Аминокислотная последовательность VL	Нуклеотидная последовательность VL
mR005-1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 32
mR005-2	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36

Фиг. 2. Аминокислотная и нуклеотидная последовательности гибридного варианта MAб Fb24 (SEQ ID NO: 3 и 4) или Fc34 (SEQ ID NO: 1 и 2). Последовательность Fc39 такая же, как последовательность Fc24, с He в положении 305. Аминокислоты показаны в виде однобуквенных кодов. Согласно литературным данным, нумерация аминокислот в области Fc основана на базе данных Kabat (CH1: от 118 до 215; шарнир: от 216 до 230; CH2: от 231 до 340; CH3: от 341 до 447).

Вариации между различными Fc, используемыми в изобретении, относительно нативного Fc (Fc0):

Название мутанта	Мутации относительно нативного Fc из IgG1 человека (Fc0)
Fc34	F243L/R292P/Y300L/V305L/K326A/P396L
Fc24	F243L/R292P/Y300L/V305L/ K326A/E333A/P396L
Fc39	F243L/R292P/Y300L/V305I/ K326A/E333A/P396L

Фиг. 3. In vivo ингибирование роста опухоли DLBCL подтипа ABC с помощью MAб анти-CD19/IDD001. 3A: модель ксенотрансплантата LY0257; 3B: модель ксенотрансплантата LY2264; 3C: модель ксенотрансплантата LY3604; 3D: модель ксенотрансплантата LY2264 с вариациями дозы.

Фиг. 4. In vivo ингибирование роста опухоли DCBCL подтипа GCB с помощью MAб анти-CD19/IDD001. 4A: модель ксенотрансплантата LY2214; 4B: модель ксенотрансплантата LY2318; 4C: модель ксенотрансплантата LY2214 с изменениями дозы.

Фиг. 5. In vivo ингибирование роста опухоли DLBCL подтипа ABC/GCB с помощью анти-CD19/IDD001 MAб. 5A: модель ксенотрансплантата LY2345; 5B: модель ксенотрансплантата LY2266; 5C: модель ксенотрансплантата LY2345 с изменениями дозы.

Фиг. 6. In vivo ингибирование роста опухоли DLBCL подтипа ABC с помощью анти-СБ19/ШБ001 MAб в комбинации с винкристином.

Фиг. 7. In vivo ингибирование роста опухоли DLBCL подтипа ABC с помощью анти-CD19/IDD001 MAб в комбинации с доксорубицином.

Фиг. 8. In vivo ингибирование роста опухоли FL с помощью анти-СБ19/ШБ001 MAб в комбинации с анти-CD20 MAб (ритуксимаб).

Фиг. 9. Совместное направленное воздействие CD19 и CD20 увеличивает процент выживаемости при более низкой концентрации MAб.

Фиг. 10. Легкие и тяжелые гуманизированные последовательности, антитело IDD001.

Пример 1. Анти-CD19 антитела получали, как описано в WO 2012/010562 или US 9120856.

Был проведен скрининг мышинных MAб на способность вызывать наивысший уровень запрограммированной гибели клеток или апоптоза. Были отобраны два анти-CD19 MAб, с нуклеотидной и аминокислотной последовательностями мышинных MAб R005-1 и MAб R005-2, описанных на фиг. 1.

Чтобы улучшить элиминацию раковых клеток, проводили Fc-инжиниринг для усиления цитотоксической активности, зависящей от ADCC и CDC. Последовательности аминокислот и нуклеиновых кислот оптимизированного Fc, кодифицированного как Fc24 (SEQ ID NO: 3 и 4) или Fc34 (SEQ ID NO: 1 и 2) вариант MAб, были описаны в виде однобуквенных кодов на фиг. 2. Согласно литературным данным, нумерация аминокислот в области Fc основана на базе данных Kabat (CH1: от 118 до 215; шарнир: от 216 до 230; CH2: от 231 до 340; CH3: от 341 до 447). Вариации между различными Fc, используемыми в изобретении, относительно нативного Fc (Fc0).

Полная последовательность оптимизированного Fc гуманизированного MAб IDD001 описана на фиг. 10.

Пример 2. Различные аминокислотные замены в области Fc.

В этих экспериментах было создано несколько альтернативных моноклональных антител на основе chR005-1 Fc24 из примера 1. Это антитело имеет переменные области, связывающиеся с CD19, и Fc-область IgG1, содержащую мутации F243L/R292P/Y300L/V305L/K326A/E333A/P396L. Таким образом, были получены варианты этого антитела, в которых одна заменяемая аминокислота была заменена.

Эти варианты были проанализированы на CDC в присутствии человеческой сыворотки и ADCC в цельной крови.

Полученные результаты представлены в Декларации от 11 января 2016 г. в соответствии с правилом 132 в истории файлов заявки США 13/811134, которая включена в данный документ ссылкой. Результаты показывают, что следующие варианты замены являются функциональными для ADCC в цельной крови и CDC в сыворотке человека, при этом не наблюдается значительного влияния в отношении первоначальной замены IDD001:

F243: L может быть заменено на W, Y, R, Q, I, A;
 R292: P может быть заменен G или A;
 V305: L (или I) может быть заменено на A;
 P396: L может быть заменен I или A;
 Y300: L может быть заменен на K, F, I, A;
 K326: A может быть заменено на V, E, D, M, S, N, W;
 E333: A может быть заменено на V, G, D, K, S, N, R, Q.

Таким образом, специалист в данной области может оценить, что замены могут быть сделаны в области Fc при сохранении, по существу, эффекторных функций Fc или антитела, содержащего Fc, и что эти замены охватываются настоящим изобретением.

Пример 3. Ритуксан® (ритуксимаб) был приобретен у Roche.

Пример 4. Онковин® (винкристин) был приобретен у Selleck (номер по каталогу: S1241).

Пример 5. Адриамицин® (доксорубин) был приобретен у Selleck (номер по каталогу: S1208).

Пример 6. Исследование *in vivo* на моделях PDX для DLBCL. Каждую мышь подкожно инокулировали в правый бок одним фрагментом (2-3 мм в диаметре) модельной ксенотрансплантируемой первичной опухоли человека (LY0257, LY2214, LY2264, LY2266, LY2318, LY2345 или LY3604) для развития опухоли. Когда средний или индивидуальный размер опухоли достигал 100-250 мм³, мышью случайным образом (при необходимости использовали повторную регистрацию) распределяли на 3 группы. Каждая группа содержала 1 или 2 мыши. День создания групп и начала дозирования был обозначен как день 0. Объем дозирования корректировали с учетом массы тела (объем дозирования = 5 мкл/г). После инокуляции животных ежедневно проверяли на заболеваемость и смертность. Во время обычного мониторинга животных проверяли на любое влияние роста опухоли и обработки на нормальное поведение, такое как подвижность, потребление пищи и воды, увеличение/потеря массы тела, помутнение глаз/шерсти и любой другой аномальный эффект. Смерть и наблюдаемые клинические признаки регистрировали с учетом количества животных в каждой подгруппе. После окончательной обработки проводили наблюдения в течение двух недель без дозирования. Животных в группе носителя умерщвляли до окончания исследования из-за объема опухоли (TV) более 3000 мм³. Размер опухоли измеряли штангенциркулем два раза в неделю в двух измерениях. Объем опухоли выражали в мм³ по формуле: TV=0,5a×b², где a и b - длинный и короткий диаметры опухоли, соответственно. Массу тела измеряли два раза в неделю. Если индивидуальная мышь имела потерю массы тела ≥15%, то мышь получала перерыв введения дозы до тех пор, пока ее потеря масса тела не восстанавливалась. В следующих условиях жизненный эксперимент с отдельными животными или целыми группами прекращали путем эвтаназии до смерти или до достижения коматозного состояния.

Подтверждение концепции DLBCL *in vivo* от производных пациентов (модели PDX). Выбирали 7 моделей ксенотрансплантатов лимфомы HuPrime® (отобранных в банке клеток CRO CD19 + для кДНК), LY0257, LY2214, LY2264, LY2266, LY2318, LY2345 и LY3604. Подтип рака у этих моделей приведен в таблице ниже.

Таблица 1

Дизайн исследования влияния MAb в зависимости от подтипа DLBCL

Модельная номенклатура	Подтип
LY0257	NHL (DLBCL, ABC, MYD88 L265P)
LY2214	NHL (DLBCL, GCB)
LY2264	NHL (DLBCL, ABC, MYD88 L265P)
LY2266	NHL (B-клетка, ABC/GCB)
LY2318	NHL (DLBCL, GCB)
LY2345	NHL (DLBCL, ABC/GCB)
LY3604	NHL (DLBCL, ABC)

Дизайн исследования влияния MAb на подтипы DLBCL. Были протестированы семь моделей ксенотрансплантата лимфомы HuLPLM® DLBCL ABC (LY0257, LY2264, LY3604), GCB (LY2214, LY2318) или ABC/GCB (LY2345, LY2266).

Таблица 2

Дизайн исследования влияния МАb на подтип DLBCL

группа	N	Обработка	Уровень дозы (мг/кг)	Путь введения дозы	Частота введения дозы
1	1	Без обработки или нерелевантный человеческий IgG	Не доступно	Не доступно	BIW × 4
2	2	IDD001 MAb анти CD19	10	<i>в.в.</i>	BIW × 4

N: количество животных на группу.

Дизайн исследования влияния дозы МАb на подтипы DLBCL.

Были протестированы три модели ксенотрансплантата лимфомы HuPrime® DLBCL, такие как ABC (LY2264), GCB (LY2214) или ABC/GCB (LY2345).

Таблица 3

Дизайн исследования эффективности введения дозы МАb на ABC/LY2264 и GCB/LY2214 у мышей Nod SCID

группа	N	Обработка	Уровень дозы (мг/кг)	Путь введения дозы	Частота введения дозы
1	3	Без обработки или нерелевантный человеческий IgG	-	-	BIW × 4
2	3	IDD001 MAb анти CD19	10	<i>в.в.</i>	BIW × 4
3	3		1	<i>в.в.</i>	BIW × 4
4	3		0.1	<i>в.в.</i>	BIW × 4

Таблица 4

Дизайн исследования эффективности введения дозы МАb на ABC/GCB LY2345 в NPG-мышьях

группа	N	Обработка	Уровень дозы (мг/кг)	Путь введения дозы	Частота введения дозы
1	3	Без обработки или нерелевантный человеческий IgG	-	-	BIW × 4
2	3	IDD001 MAb анти CD19	10	<i>в.в.</i>	BIW × 4
3	3		25	<i>в.в.</i>	BIW × 4
4	3		50	<i>в.в.</i>	BIW × 4

Примечание: N: количество животных на группу.

Дизайн исследования для комбинированной терапии DLBCL подтипа ABC.

Тестировали модель ксенотрансплантата лимфомы HuPrime® DLBCL ABC (LY0257).

Таблица 5

Дизайн исследования комбинированной терапии для LY0257 на голых мышьях BALB/c

группа	N	Обработка	Уровень дозы (мг/кг)	Путь введения дозы	Частота введения дозы
1	3	BIW × 4	-	-	BIW × 4
2	3	IDD001 Анти-CD19 MAb	10	<i>в.в.</i>	BIW × 4
3	3	винкристин	0.2	<i>в.б.</i>	QD×7
4	3	Доксорубицин	5	<i>в.в.</i>	Q3D × 4
5	3	IDD001 Анти-CD19 MAb	10	<i>в.в.</i>	BIW.4
		винкристин	0.2	<i>в.б.</i>	QD×7
6	3	IDD001 анти-CD19 MAb	10	<i>в.в.</i>	BIW × 4
		Доксорубицин	5	<i>в.в.</i>	Q3D × 4

In vivo ингибирование роста опухолей подтипов DLBCL с помощью анти-CD19 МАb.

Результаты, представленные на фиг. 3, показали, что лимфома DLBCL-ABC частично уменьшилась, что показано на примере трех независимых опухолей человека, привитых на полученных PDX-мышьях. 3A: модель ксенотрансплантата LY0257; 3B: модель ксенотрансплантата LY2264; 3C: модель ксенотрансплантата LY3604. Согласно дозозависимому способу, опосредованная IDD001 цитотоксичность модели PDX LY2264 была очень чувствительной при самой высокой дозе МАb 10 мг/кг. 3D: модель ксенотрансплантата LY2264 с вариациями дозы.

Результаты, представленные на фиг. 4, демонстрируют опосредованную IDD001 цитотоксичность в отношении двух лимфом DLBCL-GCB при различной степени гибели клеток. Модель LY2214 PDX была очень чувствительной, тогда как модель LY2318 PDX была умеренно чувствительной. 4A: модель ксе-

нотрансплантата LY2214; 4B: модель ксенотрансплантата LY2318. Следуя дозозависимому способу, опосредованная IDD001 цитотоксичность модели PDX LY2214 была очень чувствительной при самой высокой дозе MAb 10 мг/кг. 4C: модель ксенотрансплантата LY2214 с изменениями дозы.

Результаты, представленные на фиг. 5, демонстрируют, что лимфома DLBCL-ABC/GCB частично уменьшилась 5A: модель ксенотрансплантата LY2345; 5B: модель ксенотрансплантата LY2266. Даже при самой высокой концентрации MAb (50 мг/мл) полной регрессии опухоли не наблюдалось. 5C: модель ксенотрансплантата LY2345 с изменениями дозы.

In vivo ингибирование роста опухолей подтипов диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL) с помощью комбинированной терапии на основе анти-CD19 MAb и химиотерапевтических лекарственных средств.

Чтобы усилить регрессию опухоли, цитотоксические эффекты комбинации IDD001 и винкристина были представлены на фиг. 6. Комбинированная терапия с IDD001 и винкристином на модели LY0257 DLBCL - ABC приводила к синергетическому уничтожению клеток по сравнению с любым отдельным средством.

В отличие от результатов, показанных на фиг. 7, выявлено, что после комбинированной терапии с IDD001 и доксорубицином на модели LY0257 DLBCL - ABC подобного более сильного контроля роста опухоли не наблюдалось.

Пример 7. Исследование in vivo на моделях CDX для FL.

Клеточную линию фолликулярной лимфомы человека RL инъецировали подкожно мышам SCID в концентрации 5×10^6 клеток на инъекцию (200 мкл). Когда опухоли достигли среднего объема около 100 мм³, мышей рандомизировали на 9 групп (всего 45 мышей). Всех мышей наблюдали, чтобы обнаружить любые токсические эффекты продукта. Конечная точка определялась на основании этики по отношению к животным как диаметр опухоли >18 мм, значительная потеря массы или изменение самочувствия животных. Чтобы оценить эффективность соединений по онкогенезу, объем опухоли измеряли два раза в неделю. Размеры первичных опухолей измеряли с помощью штангенциркуля, и экстраполировали объем опухоли (TV) на сферу по формуле $TV = 4/3 \pi r^3$, вычисляя средний радиус из двух измерений. Медиана и стандартное отклонение также были рассчитаны для каждой группы. Медиана предпочтительней среднего, для исключения крайних значений. Обработку MAb проводили внутривенной инъекцией два раза в неделю в течение трех недель в дозах 30, 10 или 1 мг/кг. Продукт был подготовлен в соответствии с рекомендациями спонсора, то есть разбавлен в PBS. Мышей умерщвляли, когда максимальный объем опухолей достигал 1600 мм³. Конечные точки определялись этикой клинических испытаний как диаметр опухоли >18 мм или потеря массы >10% массы тела, или когда опухоли опасны для мышей (некроз). Статистический анализ проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prism. GraphPad Prism сочетает в себе научную графику, всестороннюю подборку кривых, понятную статистику и организацию данных. Критерий Стьюдента (двусторонний критерий Стьюдента) вычисляли для значений объема опухоли (мм³), измеренных в день умерщвления.

Результаты, представленные на фиг. 8, показали, что комбинированная обработка анти-CD19/IDD001 MAb в комбинации с MAb анти-CD20 (ритуксимаб) приводила к аддитивной цитотоксичности опухолевого роста FL.

Совместное направленное воздействие на CD19 и CD20 увеличило процент выживаемости. В то время как в состоянии полной ремиссии находились 33% мышей, получавших ритуксимаб в дозе 1 мг/кг, в состоянии полной ремиссии на 45 день находились 50% мышей, получавших ритуксимаб и IDD001. Подробные значения выживаемости на 55 день представлены в следующей таблице:

Идентификация	Прогрессирование опухоли	Полная ремиссия
День	55	55
контроль	100	0
ритуксимаб - 1 мг/кг	67	33
IDD001- 1 мг/кг	100	0
ритуксимаб - 1 мг/кг + IDD001- 1 мг/кг	50	50

Далее изобретение будет описано следующими пронумерованными абзацами:

1. Фармацевтическая композиция, содержащая анти-CD19 антитело, которая включает

(i) CDR одного из антител R005-1, R005-2 или IDD001, чьи аминокислотные последовательности VH и VL представлены в таблице ниже:

	Аминокислотная последовательность VH	Аминокислотная последовательность VL
R005-1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 31
R005-2	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 35
IDD001	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 37

(2i) вариант Fc-области IgG1 человека, где эта вариантная область включает аминокислотную замену в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 396 или 243 292, 300, 305, 326, 333, 396 Fc-области из IgG человека, где нумерация аминокислотных остатков в Fc-области соответствует Kabat, для применения при лечении диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), экспрессирующей CD19, или фолликулярной лимфомы (FL), экспрессирующей CD19, у паци-

ента, нуждающегося в этом.

2. Комбинация (1) анти-CD19 антитела, включающего

(i) CDR одного из антител R005-1, R005-2 или IDD001, чьи аминокислотные последовательности VH и VL представлены в таблице ниже:

	Аминокислотная последовательность VH	Аминокислотная последовательность VL
R005-1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 31
R005-2	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 35
IDD001	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 37

(2i) вариант Fc-области IgG1 человека, где эта вариантная область включает аминокислотную замену в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 396 или 243 292, 300, 305, 326, 333, 396 Fc-области из IgG человека, где нумерация аминокислотных остатков в Fc-области соответствует Kabat,

и (2) химиотерапевтическое лекарственное средство из группы алколоидов барвинка для применения при лечении диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), экспрессирующей CD19, у пациента, нуждающегося в этом.

3. Комбинация по абзацу 2, где химиотерапевтическое лекарственное средство представляет собой винкристин.

4. Комбинация для применения по абзацу 2 или 3, которая предназначена для применения при лечении DLBCL подтипа GCB, ABC или ABC/GCB.

5. Комбинация для применения по любому из абзацев 2-4, которая предназначена для применения в комбинации с винкристином для лечения DLBCL подтипа ABC или GCB или ABC/GCB, где комбинированное применение антитела и химиотерапевтического лекарственного средства является одновременным, отдельным или последовательным.

6. Комбинация по любому из абзацев 2-5, в которой анти-CD19 антитело в сочетании с винкристином приводит к более высокой скорости регрессии по сравнению с любым отдельным агентом.

7. Комбинация (1) анти-CD19 антитела, включающего

(i) CDR одного из антител R005-1, R005-2 или IDD001, чьи аминокислотные последовательности VH и VL представлены в таблице ниже.

	Аминокислотная последовательность VH	Аминокислотная последовательность VL
R005-1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 31
R005-2	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 35
IDD001	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 37

(2i) вариант Fc-области IgG1 человека, где эта вариантная область включает аминокислотную замену в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 396 или 243 292, 300, 305, 326, 333, 396 Fc-области IgG человека, где нумерация аминокислотных остатков в Fc-области соответствует Kabat,

и (2) анти-CD20 антитело для применения при лечении фолликулярной лимфомы (FL), экспрессирующей CD19 и CD20, у пациента, нуждающегося в этом.

8. Комбинация для применения по абзацу 8, где анти-CD20 антитело представляет собой ритуксан.

9. Комбинация для применения по абзацу 7 или, где комбинация обоих антител приводит к более высокой скорости регрессии или ремиссии по сравнению с любым отдельным агентом.

10. Комбинация по любому из абзацев 2-9, где анти-CD19 антитело включает аминокислотные последовательности VH и VL, представленные в таблице ниже.

	Аминокислотная последовательность VH	Аминокислотная последовательность VL
R005-1	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 31
R005-2	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 35
IDD001	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 37

11. Композиция или комбинация для применения по любому из абзацев 1-10, где антитело включает Fc-область, в которой Phe243 замещен Leu, Arg292 замещен Pro, Tyr300 замещен Leu, Val305 замещен Leu или Ile, Lys326 замещен Ala и Pro396 замещен Leu.

12. Композиция или комбинация для применения по любому из абзацев 1-10, где антитело включает Fc-область, в которой Phe243 замещен Leu, Arg292 замещен Pro, Tyr300 замещен Leu, Val305 замещен Leu или Ile, Lys326 замещен Ala и Pro396 замещен Leu, а Glu333 замещен Ala.

13. Гуманизованное моноклональное анти-CD19 антитело, имеющее последовательность VH SEQ ID NO: 39 и последовательность VL SEQ ID NO: 37.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для лечения диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), экспрессирующей CD19, у пациента, нуждающегося в этом, содержащая анти-CD19 антитело, которое содержит

(i) CDR из IDD001, чья аминокислотная последовательность VH состоит из аминокислот 1-121 в SEQ ID NO: 39, а VL состоит из аминокислот 1-103 в SEQ ID NO: 37,

(2i) вариант Fc-области IgG1 человека, где эта вариантная область содержит аминокислотную заме-

ну в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 333, 396 Fc-области из IgG человека,

где нумерация аминокислотных остатков в Fc-области соответствует Kabat.

2. Комбинация для лечения диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), экспрессирующей CD19, у пациента, нуждающегося в этом, из

(1) анти-CD19 антитела, включающего

(i) CDR из IDD001, чья аминокислотная последовательность VH состоит из аминокислот 1-121 в SEQ ID NO: 39, а VL состоит из аминокислот 1-103 в SEQ ID NO: 37,

(2i) вариант Fc-области IgG1 человека, где эта вариантная область содержит аминокислотную замену в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 333, 396 Fc-области из IgG человека,

где нумерация аминокислотных остатков в Fc-области соответствует Kabat; и

(2) винкристина.

3. Комбинация по п.2, которая предназначена для лечения DLBCL подтипа GCB, ABC или ABC/GCB.

4. Комбинация по любому из пп.2-3, которая предназначена для лечения DLBCL подтипа ABC или GCB или ABC/GCB, отличающаяся тем, что комбинированное применение антитела и химиотерапевтического лекарственного средства является одновременным, отдельным или последовательным.

5. Комбинация по любому из пп.2-4, отличающаяся тем, что анти-CD19 антитело в сочетании с винкристином приводит к более высокой скорости регрессии по сравнению с любым агентом по отдельности.

6. Комбинация для лечения фолликулярной лимфомы (FL), экспрессирующей CD19 и CD20, у пациента, нуждающегося в этом, из

(1) анти-CD19 антитела, включающего

(i) CDR из IDD001, чья аминокислотная последовательность VH состоит из аминокислот 1-121 в SEQ ID NO: 39, а VL состоит из аминокислот 1-103 в SEQ ID NO: 37,

(2i) вариант Fc-области IgG1 человека, где эта вариантная область содержит аминокислотную замену в каждом из аминокислотных положений 243, 292, 300, 305, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 396 или 243, 292, 300, 305, 326, 333, 396 Fc-области из IgG человека,

где нумерация аминокислотных остатков в Fc-области соответствует Kabat,

и (2) анти-CD20 антитела Ритуксимаба.

7. Комбинация по п.6, отличающаяся тем, что комбинация обоих антител приводит к более высокой скорости регрессии или ремиссии по сравнению с одним из агентов.

8. Композиция или комбинация по любому из пп.1-7, отличающаяся тем, что анти-CD19 антитело содержит аминокислотные последовательности VH, где аминокислотная последовательность VH состоит из аминокислот 1-121 в SEQ ID NO: 39 и VL, где аминокислотная последовательность VL состоит из аминокислот 1-103 в SEQ ID NO: 37.

9. Композиция или комбинация по любому из пп.1-8, отличающаяся тем, что антитело содержит Fc-область, в которой Phe243 замещен Leu, Arg292 замещен Pro, Tyr300 замещен Leu, Val305 замещен Leu или Ile, Lys326 замещен Ala и Pro396 замещен Leu.

10. Композиция или комбинация по любому из пп.1-8, отличающаяся тем, что антитело содержит Fc-область, в которой Phe243 замещен Leu, Arg292 замещен Pro, Tyr300 замещен Leu, Val305 замещен Leu или Ile, Lys326 замещен Ala и Pro396 замещен Leu, а Glu 333 замещен Ala.

11. Гуманизированное моноклональное анти-CD19 антитело, имеющее следующие CDR согласно IMGT, Kabat или общей системе нумерации, соответственно:

	SEQ ID NO:	Последовательность IMGT	SEQ ID NO:	Последовательность Kabat	SEQ ID NO:	Последовательность (Общая система нумерации)
VH IDD001						
CDR1	5	GYAFSSYW	11	SYWVN	16	SSYW
CDR2	6	IYPGDGDT	12	RIYPGDGDINYAQKFQG	6	IYPGDGDТ
CDR3	7	ARSITTVVGCAMDY	13	SITTVVGCAMDY	13	SITTVVGCAMDY
VL IDD001						
CDR1	41	QSINNW	42	KASQSINNWLA	41	QSINNW
CDR2	43	GAS	44	GASTLES	43	GAS
CDR3	10	QQSWNTPWT	10	QQSWNTPWT	10	QQSWNTPWT

12. Гуманизированное моноклональное анти-CD19 антитело по п.11, имеющее последовательность VH 1-121 SEQ ID NO: 39 и последовательность VL 1-103 SEQ ID NO: 37.

13. Гуманизированное моноклональное анти-CD19 антитело по п.11, имеющее тяжелую цепь с последовательностью SEQ ID NO: 39 и легкую цепь с последовательностью SEQ ID NO: 37.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая гуманизированное моноклональное анти-CD19 антитело по любому из пп.11-13, и фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель.

15. Способ лечения диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL) у пациента, нуждающегося в

этом, включающий введение эффективного количества моноклонального антитела по любому из пп.11-13.

16. Способ лечения фолликулярной лимфомы (FL), включающий введение эффективного количества комбинации по п.6 и эффективного количества моноклонального анти-CD20 антитела Ритуксимаба.

17. Способ лечения фолликулярной лимфомы (FL) у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение эффективного количества моноклонального антитела по любому из пп.11-13.

VH-R005-1

```

----- H-FR1 - IMGT -----
Q V Q L Q Q S G A E L V R P G S S V K
CAG GTC CAG CTG CAG CAG TCT GGG GCT GAA CTG GTG AGG CCT GGG TCC TCA GTG AAG

----- H-CDR1 - IMGT -----
I S C K A S G Y A F S S Y W V N W M K
ATT TCC TGT AAG GCT TCT GGC TAT GCA TTC AGT AGC TAC TGG GTG AAC TGG ATG AAG

----- H-FR2 - IMGT ----- H-CDR2 - IMGT -----
Q R P G Q G L E W I G Q I Y P G D G D
CAG AGG CCT GGA CAG GGA CTT GAG TGG ATT GGA CAG ATT TAC CCT GGA GAT GGT GAT

----- H-FR3 - IMGT -----
T N Y N G K F K G R A T V T A D K S S
ACT AAT TAC AAT GGA AAG TTC AAG GGT CGA GCC ACA GTG ACT GCA GAC AAA TCC TCC

-----
S T S Y M Q F S S L T S E D S A V Y F
AGC ACA TCC TAC ATG CAG TTC AGC AGC CTA ACA TCT GAG GAC TCT GCG GTC TAT TTC

----- H-CDR3 - IMGT -----
C A R S I T T V V G C A M D Y W G Q G
TGT GCA AGA TCT ATT ACT ACG GTG GTA GGC TGT GCT ATG GAC TAC TGG GGT CAA GGA

T S V T V S S
ACC TCG GTC ACC GTC TCC TCA

```

VL-R005-1

```

----- L-FR1 - IMGT -----
D I Q M T Q S S A Y L S V S L G G R V
GAC ATT CAG ATG ACC CAG TCT TCT GCC TAC CTG TCT GTA TCT CTA GGA GGC AGG GTC

----- L-CDR1 - IMGT -----
T I T C K A S D H I N N W L A W Y Q H
ACC ATT ACT TGC AAG GCA AGT GAC CAC ATT AAT AAT TGG TTA GCC TGG TAT CAA CAT

----- L-FR2 - IMGT ----- L-CDR2 - IMGT -----
K P G N A P R L L I S G A T T L E T G
AAA CCA GGA AAT GCT CCT AGG CTC TTA ATA TCT GGT GCA ACC ACT TTG GAA ACT GGG

----- L-FR3 - IMGT -----
V P S R F S G S G S G K D Y T L S I T
GTT CCT TCA AGA TTC AGT GGC AGT GGA TCT GGA AAG GAT TAC ACT CTC AGC ATT ACC

----- L-CDR3 - IMGT -----
S L Q T E D V A T Y Y C Q Q S W N T P
AGT CTT CAG ACT GAA GAT GTT GCT ACT TAT TAC TGT CAA CAG TCT TGG AAT ACT CCG

W T F G G G T K
TGG ACG TTC GGT GGA GGC ACC AAG

```

VH-R005-2

```

----- H-FR1 - IMGT -----
E V Q L Q Q S G P E L V K P G A S V K
GAG GTT CAG CTG CAA CAG TCT GGA CCT GAG CTG GTA AAG CCT GGG GCT TCA GTG AAG

----- H-CDR1 - IMGT -----
M S C K A S G Y T F T S Y V M H W V K
ATG TCC TGC AAG GCT TCT GGA TAC ACA TTC ACT AGC TAT GTT ATG CAC TGG GTG AAG

----- H-FR2 - IMGT ----- H-CDR2 - IMGT -----
Q K P G Q G L E W I G Y V N P Y N D G
CAG AAG CCT GGG CAG GGC CTT GAG TGG ATT GGA TAT GTT AAT CCT TAC AAT GAT GGT

----- H-FR3 - IMGT -----
T K Y N E K F K G K A T L T S D K S S
ACT AAG TAC AAT GAG AAG TTC AAA GGC AAG GCC ACA CTG ACT TCA GAC AAA TCC TCC

-----
S T A Y M E L S S L T S E D S A V Y Y
AGC ACA GCC TAC ATG GAG CTC AGC AGC CTG ACC TCT GAG GAC TCT GCG GTC TAT TAC

----- H-CDR3 - IMGT -----
C A R G P Y Y Y G S S P F D Y W G Q G
TGT GCA AGA GGG CCT TAT TAC TAC GGT AGT AGC CCC TTT GAC TAC TGG GGC CAA GGC

Q V T V S S
CAG GTC ACC GTC TCC TCA

```

VL-R005-2

```

----- L-FR1 - IMGT -----
D A V M T Q T P L S L P V S L G D Q A
GAC GCT GTG ATG ACC CAA ACT CCA CTC TCC CTG CCT GTC AGT CTT GGA GAT CAA GCC

----- L-CDR1 - IMGT -----
S I S C R S S Q S L E N S N G N T Y L
TCC ATC TCT TGC AGG TCT AGT CAG AGC CTT GAA AAC AGT AAT GGA AAC ACC TAT TTG

----- L-FR2 - IMGT -----
N W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y R V S
AAC TGG TAC CTC CAG AAA CCA GGC CAG TCT CCA CAG CTC CTG ATC TAC AGG GTT TCC

----- L-CDR2 - IMGT -----
N R F S G V L D R F S G S G S G T D F
AAC CGA TTT TCT GGG GTC CTA GAC AGG TTC AGT GGT AGT GGA TCA GGG ACA GAT TTC

----- L-FR3 - IMGT -----
T L K I S R V E A E D L G V Y F C L Q
ACA CTG AAA ATC AGC AGA GTG GAG GCT GAG GAT TTG GGA GTT TAT TTC TGC CTC CAA

----- L-CDR3 - IMGT -----
V T H V P P T F G A G T K
GTT ACA CAT GTC CCT CCC ACG TTC GGT GCT GGG ACC AAG

```

Фиг. 1

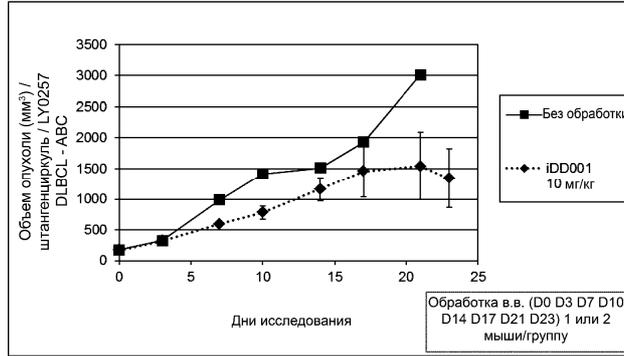
Fc24

A S T K G P S V F P L A P S S K S T S
 gcc tcc acc aag ggc cca tgc gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct
 G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T
 ggg ggc aca ggc gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg
 CH1
 V S W N S G A L T S G V H T F P A V L
 gtg tgc tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta
 Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L
 cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtc gty acc gty ccc tcc agc agc tly
 G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D
 ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac
 Шарнир
 K K V E P K S C D K T H T C P P C P A
 aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca
 P E L L G G P S V F L L P P K P K D T
 cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc tta ccc cca aaa ccc aag gac acc
 L M I S R T P E V T C V V V D V S H E
 ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtc gac gtg agc cac gaa
 D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K
 gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag
 CH2
 T K P P E E Q Y N S T L R V V S L L T
 aca aag ccg ccg gag gag cag tac aac agc acg ctc cgt gtg gtc agc ctc ctc acc
 V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N A
 gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac gca
 A L P A P I A K T I S K A K G Q P R E
 gcc ctc cca gcc ccc atc ggc aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa
 P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S
 cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc
 CH3
 L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S
 ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc
 N G Q P E N N Y K T T P L V L D S D G
 aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ctc gtg ctg gac tcc gac ggc
 S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N
 tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac
 V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S
 gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc
 L S L S P G K *
 ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga

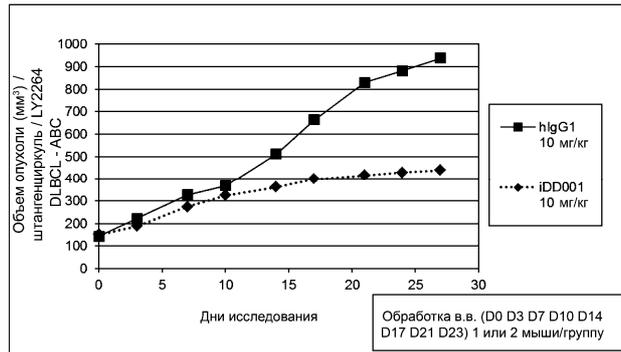
Fc34

A S T K G P S V F P L A P S S K S T S
 gcc tcc acc aag ggc cca tgc gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct
 G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T
 ggg ggc aca ggc gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg
 CH1
 V S W N S G A L T S G V H T F P A V L
 gtg tgc tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta
 Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L
 cag tcc tca gga ctc tac tcc ctc agc agc gtc gty acc gty ccc tcc agc agc tly
 G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D
 ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac
 Шарнир
 K K V E P K S C D K T H T C P P C P A
 aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca
 P E L L G G P S V F L L P P K P K D T
 cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc tta ccc cca aaa ccc aag gac acc
 L M I S R T P E V T C V V V D V S H E
 ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtc gac gtg agc cac gaa
 D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K
 gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag
 CH2
 T K P P E E Q Y N S T L R V V S L L T
 aca aag ccg ccg gag gag cag tac aac agc acg ctc cgt gtg gtc agc ctc ctc acc
 V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N A
 gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac gca
 A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E
 gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa
 P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S
 cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc
 CH3
 L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S
 ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc
 N G Q P E N N Y K T T P L V L D S D G
 aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ctc gtg ctg gac tcc gac ggc
 S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N
 tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac
 V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S
 gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc
 L S L S P G K *
 ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga

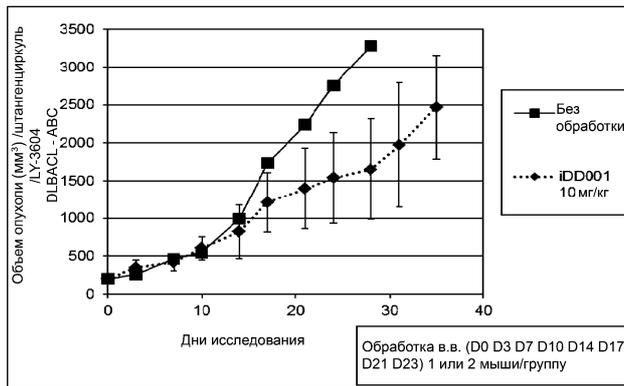
Фиг. 2



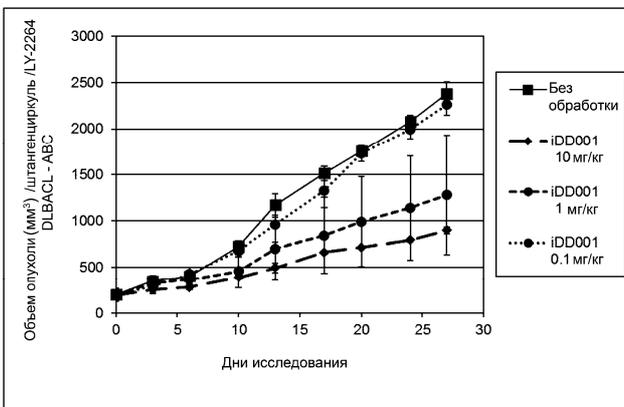
Фиг. 3А



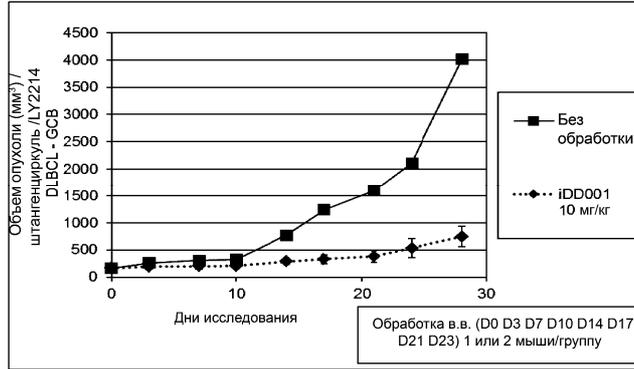
Фиг. 3В



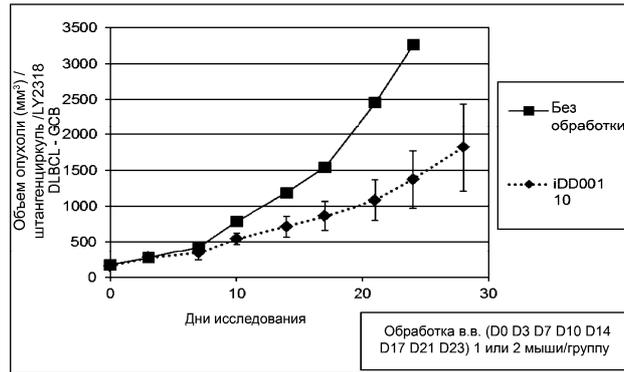
Фиг. 3С



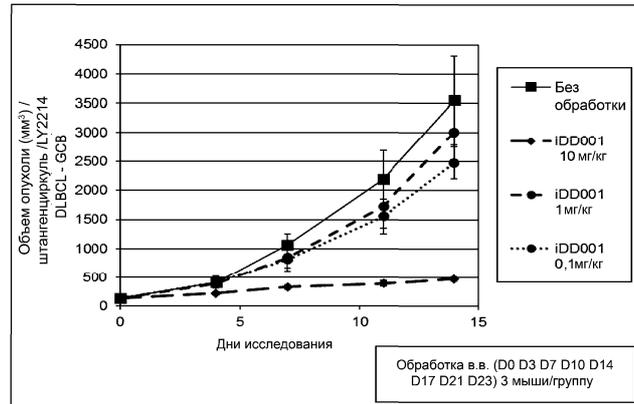
Фиг. 3Д



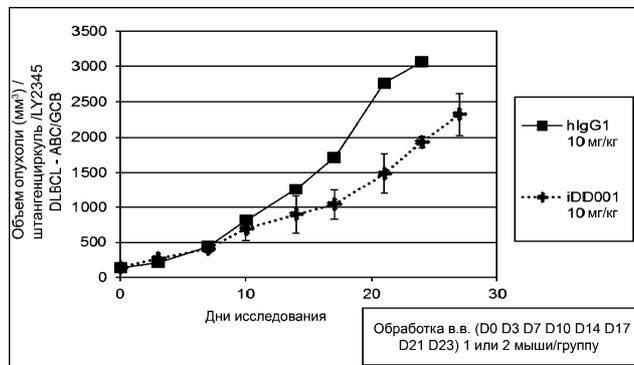
Фиг. 4А



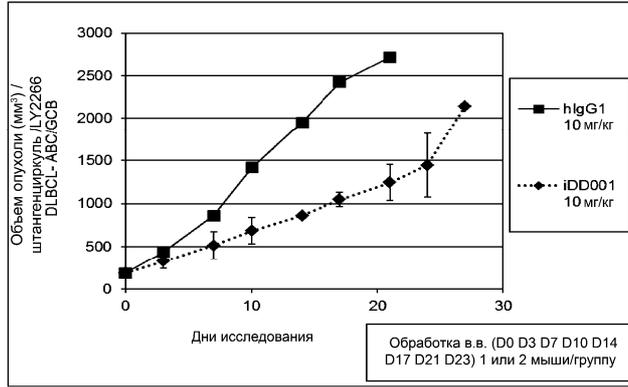
Фиг. 4В



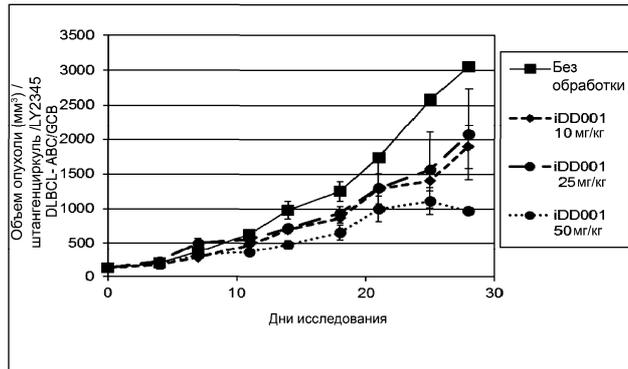
Фиг. 4С



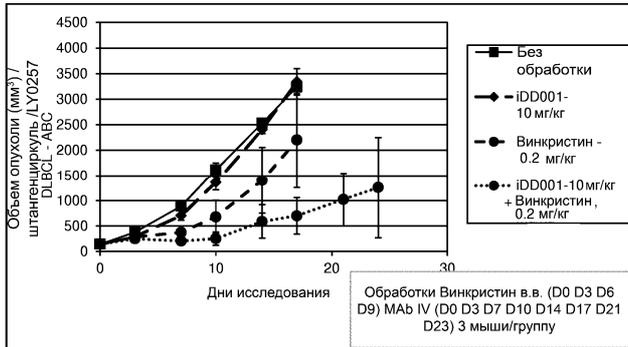
Фиг. 5А



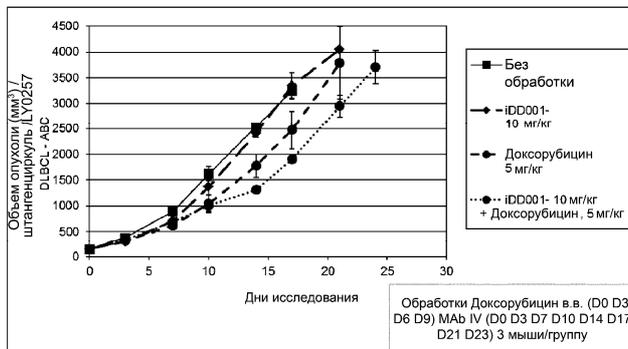
Фиг. 5B



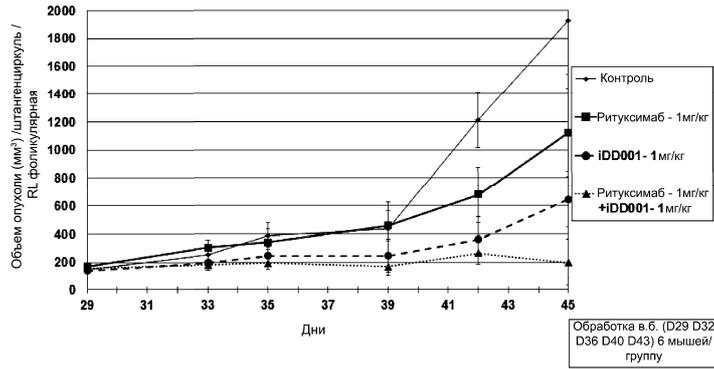
Фиг. 5C



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9

```

<----- L-FR1 - IMGT -----
D I Q M T Q S P A S L S A S V G G R V T I T C
GAC ATA CAA ATG ACA CAA TCT CCC GCT AGC CTT AGT GCA TCA GTT GGC GGC CGA GTT ACC ATC ACA TGC

-----> L-CDR1 - IMGT <----- L-FR2 - IMGT -----
K A S Q S I N N W L A W Y Q H K P G K A P K L
AAA GCT AGC CAA AGC ATC AAC AAC TGG CTG GCT TGG TAT CAG CAC AAG CCC GGT AAG GCA CCT AAG CTG

-----> L-CDR2 <----- L-FR3 - IMGT -----
L I S G A S T L E S G V P S R F S G S G S G K
CTC ATC TCT GGG GCA TCT ACT CTG GAG AGT GGT GTG CCA TCC CGA TTT TCC GGG TCT GGA AGC GGA AAG

----->-----
D Y T L T I S S L Q P E D V A T Y Y C Q Q S W
GAC TAT ACA CTG ACC ATC AGC AGT TTG CAA CCT GAA GAC GTT GCC ACT TAT TAC TGC CAA CAG TCC TGG

_ L-CDR3 - IMGT _____
N T P W T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V
AAT ACA CCC TGG ACC TTC GGC CAA GGG ACC AAG GTG GAG ATC AAG CGA ACT GTG GCT GCA CCA TCT GTG

F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N
TTG ATC TTC CCG CCA TCT GAT GAG CAG TTG AAA TCT GGA ACT GCC TCT GTT GTG TGC CTG CTG AAT AAC

F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E
TTC TAT CCC AGA GAG GCC AAA GTA CAG TGG AAG GTG GAT AAC GCC CTC CAA TCG GGT AAC TCC CAG GAG

S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A
AGT GTC ACA GAG CAG GAC AGC AAG GAC AGC ACC TAC AGC CTC AGC AGC ACC CTG ACG CTG AGC AAA GCA

D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K
GAC TAC GAG AAA CAC AAA GTC TAC GCC TGC GAA GTC ACC CAT CAG GGC CTG AGC TCG CCC GTC ACA AAG

S F N R G E C
AGC TTC AAC AGG GGA GAG TGT
    
```

```

-----H-FR1 - IMGT-----
Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K
CAA GTT CAA TTG GTT CAG TCT GGT GGT GAG GTA AAG AAG CCT GGA AGT AGT GTG AAG GTG AGT TGT AAA

-----> H-CDR1 - IMGT <-----H-FR2 - IMGT-----
A S G Y A F S S Y W V N W V K Q A P G Q G L E
GCA TCT GGA TAC GCT TTT TCC AGT TAT TGG GTG AAC TGG GTG AAG CAG GCA CCC GGT CAG GGA CTG GAG

-----> H-CDR2 - IMGT <-----
W M G R I Y P G D G D T N Y A Q K F Q G R V T
TGG ATG GGT AGG ATC TAT CCC GGG GAC GGA GAC ACA AAC TAC GCT CAG AAG TTC CAG GGA CGC GTG ACT

-----H-FR3 - IMGT-----
I T A D K S T S T A Y M E L S S L R S E D T A
ATT ACC GCC GAC AAA AGT ACT TCC ACC GCA TAT ATG GAG CTG TCT TCT TTG AGG TCC GAA GAT ACC GCT

-----> H-CDR3 - IMGT-----
V Y Y C A R S I T T V V G C A M D Y W G Q G T
GTG TAC TAC TGC GCA AGA TCC ATC ACC ACA GTG GTC GGT TGC GCT ATG GAT TAT TGG GGC CAG GGT ACT

---j-область---
L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S
CTC GTG ACA GTC AGT TCC GCC TCC ACC AAG GGC CCA TCG GTC TTC CCC CTG GCA CCC TCC TCC AAG AGC
CH1

T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S
ACC TCT GGG GGC ACA GCG GCC CTG GGC TGC CTG GTC AAG GAC TAC TTC CCC GAA CCG GTG ACG GTG TCG

-----
W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y
TGG AAC TCA GGC GCC CTG ACC AGC GGC GTG CAC ACC TTC CCG GCT GTC CTA CAG TCC TCA GGA CTY TAC

-----
S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N
TCC CTC AGC AGC GTC GTG ACC GTG CCC TCC AGC AGC TTG GGC ACC CAG ACC TAC ATC TGC AAC GTG AAT
-----Шарнир-----
H K F S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C
CAC AAG CCC AGC AAC ACC AAG GTG GAC AAG AAA GTT GAG CCC AAA TCT TGT GAC AAA ACT CAC ACA TGC

-----
P P C P A P E L L G G P S V F L L P P K P K D
CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTA CCC CCA AAA CCC AAG GAC

-----
T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E
ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA GAC CCT GAG
-----CH2-----
V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P P E E Q
GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT AAT GCC AAG ACA AAG CCG CCG GAG GAG CAG

-----
Y N S T L R V V S L L T V L H Q D W L N G K E
TAC AAC AGC ACG CTC CGT GTG GTC AGC CTC CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG

-----
Y K C K V S N A A L P A P I A K T I S K A K G
TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC GCA GCC CTC CCA GCC CCC ATC CCG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG
-----CH3-----
Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S
CAG CCC CGA GAA CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CCG GAT GAG CTG ACC AAG AAC CAG GTC AGC

-----
L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P
CTG ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGC CAG CCG

-----
E N N Y K T T P L V L D S D G S F F L Y S K L
GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CTC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC CTC TAC AGC AAG CTC

-----
T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H
ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC

-----
N H Y T Q K S L S L S P G K
AAC CAC TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA

```

Фиг. 10



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2