

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202393545 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.04.11(51) Int. Cl. C07K 16/18 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2022.06.20(54) АНТИТЕЛА, СВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕН γ C ФИБРИНА ИЛИ ФИБРИНОГЕНА ЧЕЛОВЕКА, И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 63/212,414

(72) Изобретатель:

(32) 2021.06.18

Ставенхаген Джеффри, Гасиоровска

(33) US

Ольга, Рикерт Матиас, Видбоом Пол

(86) PCT/US2022/034189

Фредрик, Варфилд Джозеф Роберт

(87) WO 2022/266540 2022.12.22

(US)

(88) 2023.02.09

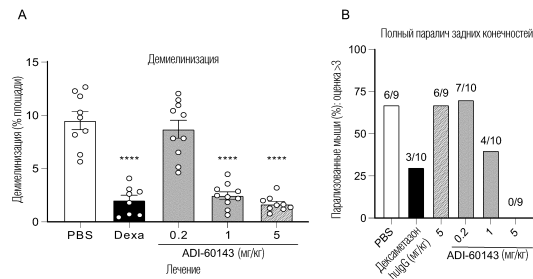
(74) Представитель:

(71) Заявитель:

Медведев В.Н. (RU)

ТЕРИНИ БАЙО, ИНК. (US)

(57) В настоящем изобретении описаны новые и улучшенные антитела, которые связывают домен γ C фибрина или фибриногена человека, и способы их применения. В некоторых аспектах в настоящем изобретении описаны способы ингибирования активации микроглии. В некоторых аспектах в настоящем изобретении описаны фармацевтические композиции, содержащие антитела, которые связывают домен γ C фибрина или фибриногена. В некоторых аспектах антитела и способы согласно настоящему изобретению использованы для лечения дегенеративных нейрональных нарушений, которые включают воспалительную демиелинизацию.



A1

202393545

202393545

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-580136EA/081

АНТИТЕЛА, СВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕН γ C ФИБРИНА ИЛИ ФИБРИНОГЕНА, ЧЕЛОВЕКА И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

Ссылка на родственные заявки

[0001] Согласно настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с предварительной заявкой на выдачу патента США № 63/212414, поданной 18 июня 2021 г., которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

Список последовательностей

[0002] Не применимо.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

[0003] Дегенеративные нейрональные нарушения, такие как рассеянный склероз (MS), могут включать воспалительную демиелинизацию и аутоиммунные реакции. Считается, что при аутоиммунных заболеваниях центральной нервной системы (ЦНС) не только для поддержания, но и для начала воспалительной демиелинизации необходима микроглия, в частности периваскулярная микроглия. Активация микроглии за счет высвобождения цитокинов и оксида азота способствует гибели как нейронов, так и олигодендроцитов. При MS воспалительные процессы связаны с разрушением миелиновых оболочек, а также могут включать повреждение аксонов, что может привести к постоянному функциональному дефициту, такому как паралич и потеря зрения. Резидентная микроглия отвечает за демиелинизацию благодаря своей способности фагоцитировать миелин и секретировать провоспалительные цитокины.

[0004] При MS поражениях периваскулярная активация микроглии локализуется с областями разрушения гематоэнцефалического барьера (BBB), а исследования изображений *in vivo* показали, что разрушение BBB провоцирует немедленную и очаговую активацию микроглии. Одним из самых ранних событий, связанных с нарушением BBB при MS, является утечка белка крови фибриногена в нервную систему, что приводит к периваскулярному отложению фибрина. Фибриноген не присутствует в здоровой ЦНС, а попадает в головной мозг только после разрушения BBB, служа таким образом сигналом «опасности» окружающей среды. При превращении фибриногена в фибрин рецептор интегрин CD11b/CD18 (также называемый: Mac-1, α Mf1 2, рецептор комплемента 3) связывается с фибрином и индуцирует активацию микроглии, приводящую к воспалительной демиелинизации. CD11b представляет собой альфа-цепь рецептора, который регулирует фагоцитоз миелина во время воспалительной демиелинизации. Имобилизованный фибриноген и нерастворимый фибрин, но не растворимый фибриноген, были идентифицированы как физиологические лиганды с высокой аффинностью к Mac-1.

[0005] Эпитоп γ 377-395 домена γ C фибрина или фибриногена представляет собой связывающий эпитоп фибрина с CD11b. Пептид фибрина γ 377-395 действует как ингибитор активации микроглии, блокируя связывание фибрина с Mac-1. Поскольку фибрин

опосредует свертывание крови путем связывания через отдельный эпитоп с рецептором интегрина $\alpha\text{IIb}\beta_3$ тромбоцитов, терапевтические средства (включая антитела), которые блокируют связывающий эпитоп CD11b с фибрином, могут снижать повреждающее действие фибрина на нервную систему, не влияя на его благоприятное воздействие на коагуляцию крови. Следовательно, при дегенеративных нейрональных заболеваниях, которые включают воспалительную демиелинизацию, в качестве терапевтических средств необходимы безопасные и эффективные антитела, которые ингибируют индуцированную фибрином активацию микроглии, не влияя на ее благотворное влияние на свертывание крови.

Сущность настоящего изобретения

[0006] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны выделенные антитела, которые связывают домен γC фибрина или фибриногена человека, содержащий тяжелую цепь, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой (VH) цепи, содержащую три последовательности CDR тяжелой цепи, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, и легкую цепь, содержащую последовательность вариабельной области легкой цепи (VL), содержащую три последовательности CDR легкой цепи, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, где: CDR-H1 содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1, 13, 25, 37, 49, 61, 73, 85, 97, 109, 121, 133, 145, 157, 169, 181, 193, 205, 217 или 229; CDR-H2 содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2, 14, 26, 38, 50, 62, 74, 86, 98, 110, 122, 134, 146, 158, 170, 182, 194, 206, 218 или 230; CDR-H3 содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3, 15, 27, 39, 51, 63, 75, 87, 99, 111, 123, 135, 147, 159, 171, 183, 195, 207, 219 или 231; CDR-L1 содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4, 16, 28, 40, 52, 64, 76, 88, 100, 112, 124, 136, 148, 160, 172, 184, 196, 208, 220 или 232; CDR-L2 содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5, 17, 29, 41, 53, 65, 77, 89, 101, 113, 125, 137, 149, 161, 173, 185, 197, 209, 221 или 233; и CDR-L3 содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6, 18, 30, 42, 54, 66, 78, 90, 102, 114, 126, 138, 150, 162, 174, 186, 198, 210, 222 или 234.

[0007] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, выбранную из последовательности, представленной в одной из SEQ ID NO: 7, 19, 31, 43, 55, 67, 79, 91, 103, 115, 127, 139, 151, 163, 175, 187, 199, 211, 223 или 235. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VL, выбранную из последовательности, представленной в SEQ ID NO 10, 22, 34, 46, 58, 70, 82, 94, 106, 118, 130, 142, 154, 166, 178, 190, 202, 214, 226 или 238.

[0008] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, выбранную из последовательности, представленной в одной из SEQ ID NO: 7, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 19, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 31, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 34. В некоторых

подкласса, выбранного из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. В некоторых вариантах осуществления область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления домен Fc человека содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 8, 20, 32, 44, 56, 68, 80, 92, 104, 116, 128, 140, 152, 164, 176, 188, 200, 212, 224 или 236.

[0010] В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь последовательность константной области тяжелой цепи, представленную SEQ ID NO: 8, 20, 32, 44, 56, 68, 80, 92, 104, 116, 128, 140, 152, 164, 176, 188, 200, 212, 224 или 236. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь содержит последовательность константной области легкой цепи, представленную SEQ ID NO: 9, 21, 33, 45, 57, 69, 81, 93, 105, 117, 129, 141, 153, 165, 177, 189, 201, 213, 225 или 237.

[0011] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 7, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 10; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 19, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 22; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 31, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 34; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 43, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 46; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 55, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 58; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 67, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 70; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 79, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 82; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 91, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 94; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 103, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 106; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 115, и последовательность VL,

представленную в SEQ ID NO: 118; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 127, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 130; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 139, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 142; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 151, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 154; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 163, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 166; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 175, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 178; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 187, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 190; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 199, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 202; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 211, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 214; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 223, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 226; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 235, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 238; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

[0012] В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или несколько аминокислотных замен, где одна или несколько замен приводят к увеличению периода полувыведения антитела, увеличению активности ADCC, увеличению активности ADCP или увеличению активности CDC по сравнению с Fc без одной или нескольких замен. В некоторых вариантах осуществления область Fc связывает рецептор Fcγ, выбранный из группы, состоящей из: FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa и FcγRIIIb.

[0013] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело связывает

эпитоп γ 377-395 домена γ C фибрина или фибриногена. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с пептидом, содержащим аминокислотную последовательность, представленную по меньшей мере в одной из SEQ ID NO: 241 и 249-253, с K_D менее или равной приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8×10^{-5} M, при измерении методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с кинетикой единственного цикла (SCK). В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с пептидом, содержащим последовательность эпитопа γ 377-395 домена γ C фибрина или фибриногена человека с K_D менее или равной приблизительно 8×10^{-5} M, при измерении методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с кинетикой единственного цикла (SCK). В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует связывание Mac-1 с доменом γ C фибрина или фибриногена. В некоторых вариантах осуществления антитело демонстрирует ингибирование адгезии микроглии к домену γ C фибрина или фибриногена.

[0014] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны выделенные антитела по любому из пунктов выше для применения в лечении дегенеративного заболевания нервной системы.

[0015] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны выделенные полинуклеотиды или наборы полинуклеотидов, кодирующие антитело по любому из приведенных выше пунктов, его VH, его VL, его легкую цепь, его тяжелую цепь или его антигенсвязывающую часть; необязательно кДНК.

[0016] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны векторы или наборы векторов, содержащие полинуклеотид или набор полинуклеотидов, описанных в настоящем документе.

[0017] В некоторых аспектах в настоящем документе описана клетка-хозяин, содержащая полинуклеотид или набор полинуклеотидов, или вектор или набор векторов, описанных в настоящем документе.

[0018] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны способы получения антител, где способ включает экспрессию антитела с помощью клетки-хозяина, описанной в настоящем документе, и выделение экспрессированного антитела.

[0019] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны фармацевтические композиции, содержащие антитело, описанное в настоящем документе, и фармацевтически приемлемое вспомогательное средство.

[0020] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны наборы, содержащие фармацевтическую композицию, описанную в настоящем документе, и инструкции по применению.

[0021] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны способы лечения дегенеративного заболевания нервной системы, где способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител, описанных в настоящем документе, или фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления дегенеративное заболевание нервной системы выбирают из группы, состоящей из: рассеянного склероза, травмы спинного мозга,

инсульта и болезни Альцгеймера.

[0022] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны способы лечения патологии, связанной со связыванием Mac-1 с фибрином или связыванием Mac-1 с фибриногеном, при этом способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител или композиции, описанных в настоящем документе.

[0023] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны способы ингибирования активации микроглии, где способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе.

[0024] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны способы предотвращения дегенеративного заболевания нервной системы, где способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе.

[0025] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны способы лечения колита у нуждающегося в этом субъекта, где способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе. В некоторых аспектах в настоящем документе описаны способы предотвращения колита у нуждающегося в этом субъекта, где способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе. В некоторых аспектах в настоящем документе описаны способы лечения воспалительного заболевания глаза у нуждающегося в этом субъекта, где способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе. В некоторых аспектах в настоящем документе описаны способы предотвращения воспалительного заболевания глаза у нуждающегося в этом субъекта, где способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител или фармацевтической композиции, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления воспалительное состояние глаза представляет собой увеит.

[0026] В некоторых аспектах в настоящем документе описаны выделенные антитела, которые связывают домен γ C фибрина или фибриногена человека, где антитело связывает фибрин человека по любому из аминокислотных остатков Lys 411, Ile 412, Ile 413, Phe 415, Asn 416, Arg 417, Leu 418, Thr 419, Ile 420 и Gly 421. В некоторых вариантах осуществления антитело связывает фибрин человека по меньшей мере с двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью, семью, восемью, девятью или всеми десятью аминокислотными остатками Lys 411, Ile 412, Ile 413, Phe 415, Asn 416, Arg 417, Leu 418, Thr 419, Ile 420 и Gly 421.

[0027] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе описаны антитела, содержащие область VH, содержащую паратоп, который содержит любой из аминокислотных остатков Ser 31, Tyr 32, Trp 33, His 35, Trp 47, Leu 50, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ala 93, Ser 94, Ser 95, Lys 96 или Asp 96, Pro 97 или Ala 97, Gly 101, Gly 102 и Trp 103. В

некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VH, содержащую паратоп, который содержит по меньшей мере два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать или все семнадцать аминокислотных остатков Ser 31, Tyr 32, Trp 33, His 35, Trp 47, Leu 50, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ala 93, Ser 94, Ser 95, Lys 96 или Asp 96, Pro 97 или Ala 97, Gly 101, Gly102 и Trp 103. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VH, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки Ser 31, Trp 33, His 35, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ser 94, Gly 101, Gly102 и Trp 103. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VH, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки Ser 31, Trp 33, His 35, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ala 93, Ser 94, Lys 96, Pro 97, Gly 101, Gly102 и Trp 103. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VH, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки Ser 31, Tyr 32, Trp 33, His 35, Trp 47, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ser 94, Ser 95, Asp 96, Ala 97, Gly 101, Gly102 и Trp 103.

[0028] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе описаны выделенные антитела, где антитело содержит область VL, содержащую паратоп, который содержит любой из аминокислотных остатков His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Tyr 49, Gln 50, Ala 91 или Asn 91, Leu 92, Leu 94 и Leu 96. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VL, содержащую паратоп, который содержит по меньшей мере два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или все десять аминокислотных остатков His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Tyr 49, Gln 50, Ala 91 или Asn 91, Leu 92, Leu 94 и Leu 96. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VL, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Gln 50, Leu 92, Leu 94 и Leu 96. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VL, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Gln 50, Asn 91, Leu 92, Leu 94 и Leu 96. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VL, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Tyr 49, Gln 50, Ala 91, Leu 92, Leu 94 и Leu 96.

Краткое описание чертежей

[0029] Эти и другие признаки, аспекты и преимущества настоящего изобретения станут лучше поняты из следующего описания и сопровождающих чертежей, где:

[0030] На фиг. 1 представлены графики анализа FACS связывания библиотеки антител с биотинилированным на N-конце гамма-пептидом P2 фибрина, показывающие результаты трех раундов созревания аффинности антитела с одной библиотекой, полученной из одного из трех исходных гуманизированных антител (клон 56657).

[0031] На фиг. 2А представлен график, показывающий результаты твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), выполненного с указанными вариантами гуманизированного антитела и пептидом P2. А= клон 60143; В= клон 61278; С= клон 61278 (дубликат); D= исходное антитело.

[0032] На фиг. 2В представлен график, показывающий результаты твердофазного

иммуноферментного анализа (ELISA), выполненного с указанными вариантами гуманизованных антител и FGG (фибриногеном). A= клон 60143; B= клон 61278; C= клон 61278 (дубликат); D= исходное антитело.

[0033] На фиг. 2С представлен график, показывающий результаты твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), выполненного с указанными вариантами гуманизованного антитела и фибрином. A= клон 60143; B= клон 61278; C= клон 61278 (дубликат); D= исходное антитело.

[0034] На фиг. 3А и 3В представлены графики, показывающие результаты анализа, демонстрирующие время лизиса сгустка образцов в присутствии вариантов гуманизованных антител. A= клон 56666; B= клон 56657; C= клон 60143; D=клон 60181; E=клон 60175; F=клон 60163; G=клон 60173; H=клон 60184; I=клон 60141; J=клон 60179; K=клон 60140; L=клон 60183.

[0035] На фиг. 4 представлены графики, показывающие результаты измерений ForteBio K_D, описанных в настоящем документе, либо с биотинилированным на N-конце гамма-пептидом P2 фибрина, конъюгированным с IgG в растворе (100 нМ), либо с FАВ (моновалентным) в растворе (100 нМ). Указаны протестированные клоны антител.

[0036] На фиг. 5 представлены графики, показывающие результаты связывания октетного Fab с биотинилированным на N-конце гамма-пептидом P2 фибрина на сенсоре SA с 100 мМ Fab в растворе. Указаны протестированные клоны антител.

[0037] На фиг. 6 представлены графики, показывающие окрашивание срезов ткани головного мозга в модели индуцированного фибриногеном энцефаломиелимита (FIE) мышей, которым внутривенно вводили искусственную спинномозговую жидкость (ACSF), только фибриноген или фибриноген и указанные клоны антител в дозе 10 мг/кг («10») или 30 мг/кг («30»). Срезы окрашивали либо Iba-1 (слева) (маркер микроглии с разведением 1:750), либо Mac-2 (справа) (маркер инфильтрации макрофагов с разведением 1:750).

[0038] На фиг. 7 представлен график, показывающий клиническую оценку мышей из экспериментальной модели аутоиммунного энцефаломиелимита (EAE), которым вводили профилактическую инъекцию только PBS, только IgG1, клона 60143 антител, клона 61278 антител или дексаметазона. Антитела вводили внутрибрюшинно по 5 мг/кг каждые 3 дня.

[0039] На фиг. 8 показаны графики начала заболевания (слева) и частоты паралича (справа) у мышей из экспериментальной модели аутоиммунного энцефаломиелимита (EAE), которым вводили профилактическую инъекцию только PBS, только IgG1, клона 60143 антител, клона 61278 антител или дексаметазона. Антитела вводили внутрибрюшинно по 5 мг/кг каждые 3 дня.

[0040] На фиг. 9 представлены графики, показывающие клиническую оценку мышей из экспериментальной модели аутоиммунного энцефаломиелимита (EAE), которым вводили профилактическую инъекцию только PBS, дексаметазона, клона 60143 антител (слева) или контрольных антител человека IgG1 (справа).

[0041] На фиг. 10 представлены графики, показывающие долю парализованных мышей (полный паралич - слева) или (частичный паралич задних конечностей - справа) из

экспериментальной модели аутоиммунного энцефаломиелита (EAE), которые были подвергнуты профилактической инъекции только PBS, дексаметазона (dexam), клона 6043 антител (в указанных концентрациях; 5=5 мг/кг, 1=1 мг/кг и 0,2=0,2 мг/кг) или контрольных антител человека IgG1 (5 мг/кг).

[0042] На фиг. 11 представлена схема, показывающая рабочий процесс анализа экспрессии генов для клеточной линии BMDM.

[0043] На фиг. 12 представлены графики, показывающие экспрессию интерлейкина (IL)-12b в клетках BMDM после инкубации с фибриногеном и фибрином, IgG1, клоном 60143 антител и клоном 61278 антител при концентрации антитела либо 50 мкг/мл (слева), либо 10 мкг/мл (справа).

[0044] На фиг. 13 представлены графики, показывающие экспрессию интерлейкина (IL)-12b в клетках BMDM после инкубации с указанными концентрациями фибриногена и клона 61278 антител (слева) или клона 60143 антител (справа).

[0045] На фиг. 14 представлен график, показывающий снижение физиологических симптомов колита в мышинной модели колита, индуцированной декстран-сульфатом натрия (DSS), у животных, которым внутривенно вводили 5 мг/кг или 30 мг/кг клона 60143 антител, или изотипических контрольных антител человека IgG1.

[0046] На фиг. 15A и фиг. 15B показано поглощение (%ID) [¹²⁵I]SIB-60143 и [¹²⁵I]SIB-61278, введенных в дозах 10 мг/кг и 30 мг/кг в крови (A) и плазме (B) мышей, с поправкой на теоретические объемы крови и плазмы.

[0047] На фиг. 16A, фиг. 16B, фиг. 16C и фиг. 16D показано биораспределение *ex vivo* [¹²⁵I]SIB-60143 (A и B) и [¹²⁵I]SIB-61278 (C и D), инъецированных в дозе 10 мг/кг (A и C) и 30 мг/кг (B и D), у мышей с течением времени.

[0048] На фиг. 17 представлена схема, показывающая кристаллическую структуру Fab клона 60143 антител (ADI60143) и клона 61278 антител (ADI61278) в комплексе с пептидом P2 (образование кристалла справа). Также показаны структура фибриногена (ФГГ) и расположение пептида P2 (внизу слева).

[0049] На фиг. 18 представлена схема, показывающая наложенные структуры Fab клона 60143 антител (ADI60143) и клона 61278 антител (ADI61278) в комплексе с пептидом P2.

[0050] На фиг. 19 представлен график, показывающий аффинность связывания клона 60143 антител (ADI60143) и клона 61278 антител (ADI61278). Связывание Fab ADI-60143 и ADI-61278 с пептидом P2 определяли с использованием Octet RED384.

[0051] (Фиг. 21 и 22), и сходные профили связывания наблюдались для трех пептидов P2 от разных видов. Однако удлиненный пептид P2 трех видов плохо связывался с Fab ADI-60143 (фиг. 22).

[0052] На фиг. 20A представлен график, показывающий связывание Fab ADI-60143 с пептидом P2 крысы, мыши или человека, определенное с помощью ELISA.

[0053] На фиг. 20B представлен график, показывающий связывание ADI-60143 IgG с пептидом P2 крысы, мыши или человека, определенное с помощью ELISA.

[0054] На фиг. 21 представлены графики, показывающие связывание ADI-60143 IgG с удлиненным пептидом P2 крысы, мыши или человека, определенное с помощью ELISA.

[0055] На фиг. 22А представлена схема, показывающая экспериментальный протокол, выполненный для определения активации микроглии и рекрутирования макрофагов в модели мышинного энцефалита, индуцированного фибрином (FIE).

[0056] На фиг. 22В представлен график, показывающий процентную площадь положительного окрашивания Iba-1 для определения активации микроглии в срезах ткани головного мозга мышей FIE, которым вводили acsf (искусственную спинномозговую жидкость), фибриноген, изотипический контроль IgG (30 мг/кг), клон THN227 исходных гуманизированных антител (без созревшей аффинности) (10 или 30 мг/кг) и клон ADI-60143 антител с созревшей аффинностью (10 или 30 мг/кг).

[0057] На фиг. 22С представлен график, показывающий процентную площадь положительного окрашивания Mac-2 для определения макрофагальной инфильтрации в срезах ткани головного мозга мышей FIE, которым вводили acsf (искусственную спинномозговую жидкость), фибриноген, изотипический контроль IgG (30 мг/кг), клон THN227 исходных гуманизированных антител (без созревшей аффинности) (10 или 30 мг/кг) и клон ADI-60143 антител с созревшей аффинностью (10 или 30 мг/кг).

[0058] На фиг. 23 представлены изображения, показывающие срезы тканей спинного мозга здоровых мышей и мышей EAE, окрашенных на ADI-60143.

[0059] На фиг. 24А представлен график, показывающий демиелинизацию, определенную путем окрашивания MBP срезов ткани спинного мозга мышей EAE, которым вводили PBS, дексаметазон (DEXA) и 0,2, 1 или 5 мг/кг клона ADI-60143 антител.

[0060] На фиг. 24В представлен график, показывающий процент мышей EAE, демонстрирующих полный паралич задних конечностей, которым вводили PBS, дексаметазон (DEXA) и 0,2, 1 или 5 мг/кг клона ADI-60143 антител.

[0061] На фиг. 25 представлен график, изображающий клиническую оценку мышей с EAE, которым вводили изотипический контроль, клон ADI-60143 антител IgG и клон ADI-60143 антител со стабилизирующими Fc мутациями LALA, и необработанных мышей без индукции EAE.

[0062] На фиг. 26А представлен график, изображающий среднее количество общих очагов воспаления/срез ткани спинного мозга у мышей EAE, которым вводили изотипический контроль, клон ADI-60143 антител IgG и клон ADI-60143 антител со стабилизирующими Fc мутациями LALA, и необработанных мышей без индукции EAE.

[0063] На фиг. 26В представлен график, показывающий процент площади CD11b+ на срез ткани у мышей EAE, которым вводили изотипический контроль, клон ADI-60143 антител IgG и клон ADI-60143 антител со стабилизирующими Fc мутациями LALA, и необработанных мышей без индукции EAE.

[0064] На фиг. 27 представлен график, изображающий клиническую оценку увеита у крыс, которым интравитреально вводили изотипический контроль, клон муринизированного антитела ADI-60143 со стабилизирующими Fc мутациями LALA

(низкая доза=10 мкг/глаз; высокая доза=50 мкг/глаз), положительный контроль FTY-720 (вводимый перорально через зонд в дозе 0,3 мг/кг), и необработанных мышей без индукции ЕАЕ.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

Определения

[0065] Если не указано иное, все термины, обозначения и другая научная терминология, используемые в данном документе, имеют значения, обычно понятные специалистам в данной области. В некоторых случаях термины с общепонятными значениями определены в данном документе для ясности и/или для удобства использования, и включение таких определений в данный документ не обязательно должно быть истолковано как представляющее отличие от того, что обычно понимается в данной области техники. Методики и процедуры, описанные или упомянутые в данном документе, в целом хорошо понятны и обычно применяются специалистами в данной области с использованием традиционных методологий, таких как, например, широко используемые методологии молекулярного клонирования, описанные в Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 4th ed. (2012) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. При необходимости процедуры, включающие использование коммерчески доступных наборов и реагентов, обычно выполняют в соответствии с протоколами и условиями, установленными производителем, если не указано иное.

[0066] При использовании в настоящем документе формы единственного числа включают ссылки на множественное число, если не указано иное.

[0067] Понятно, что аспекты и варианты осуществления изобретения, описанные в настоящем документе, включают «содержащие», «состоящие» и «состоящие по существу» аспекты и варианты осуществления.

[0068] Для всех описанных в данном документе композиций и всех способов с использованием описанных в данном документе композиций композиции могут либо содержать перечисленные компоненты или этапы, либо могут «состоять по существу» из перечисленных компонентов или этапов. Когда композиция описана как «состоящая по существу из» перечисленных компонентов, композиция содержит перечисленные компоненты и может содержать другие компоненты, которые существенно не влияют на состояние, подлежащее лечению, но не содержат никаких других компонентов, которые существенно влияют на состояние, подлежащее лечению, отличных от компонентов, которые прямо перечислены; или, если композиция содержит дополнительные компоненты, отличные от перечисленных, которые существенно влияют на состояние, подлежащее лечению, композиция не содержит достаточной концентрации или количества дополнительных компонентов, чтобы существенно повлиять на состояние, подлежащее лечению. Когда способ описан как «состоящий по существу из» перечисленных этапов, способ включает перечисленные этапы и может содержать другие этапы, которые существенно не влияют на состояние, подлежащее лечению, но способ не содержит никаких других этапов, которые существенно влияют на состояние, подлежащее лечению,

кроме тех этапов, которые прямо перечислены. В качестве неограничивающего конкретного примера, когда композиция описана как «состоящая по существу из» компонента, композиция может дополнительно содержать любое количество фармацевтически приемлемых носителей, несущих сред или разбавителей и других подобных компонентов, которые существенно не влияют на состояние, подлежащее лечению.

[0069] Термин «вектор» в рамках настоящего изобретения относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной размножить другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана. Этот термин включает вектор как самореплицирующуюся структуру нуклеиновой кислоты, а также вектор, включенный в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Некоторые векторы способны управлять экспрессией нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называются в данном документе «векторами экспрессии».

[0070] Термины «клетка-хозяин», «линия клеток-хозяев» и «культура клеток-хозяев» использованы взаимозаменяемо и относятся к клеткам, в которые была введена экзогенная нуклеиновая кислота, и потомству таких клеток. Клетки-хозяева включают «трансформанты» (или «трансформированные клетки») и «трансфектанты» (или «трансфицированные клетки»), каждый из которых включает первично трансформированную или трансфицированную клетку и полученное из нее потомство. Такое потомство может не быть полностью идентичным по содержанию нуклеиновых кислот исходной клетке и может содержать мутации. «Рекомбинантная клетка-хозяин» или «клетка-хозяин» относится к клетке, которая содержит экзогенный полинуклеотид, независимо от способа, используемого для вставки, например, прямого поглощения, трансдукции, f-спаривания или других способов, известных в данной области техники для создания рекомбинантных клеток-хозяев.

[0071] В рамках настоящего изобретения термин «эукариот» относится к организмам, принадлежащим к филогенетическому домену Eucarya, таким как животные (включая без ограничения млекопитающих, насекомых, рептилий, птиц и т.д.), инфузории, растения (включая без ограничения однодольные, двудольные, водоросли и т.д.), грибы, дрожжи, жгутиковые, микроспоридии, протисты и т.д.

[0072] В рамках настоящего изобретения термин «прокариот» относится к прокариотическим организмам. Например, неэукариотический организм может принадлежать к филогенетическому домену Eubacteria (включая без ограничения *Escherichia coli*, *Thermus thermophilus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida* и т.д.) или Archaea (включая без ограничения филогенетический домен *Methanococcus jannaschii*, *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Halobacterium*, например *Haloferax volcanii*, и виды *Halobacterium* NRC-1, *Archaeoglobus fulgidus*, *Pyrococcus Furiosus*, *Pyrococcus horikoshii*, *Aeropyrum pernix* и т.д.

[0073] «Эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» в рамках настоящего изобретения относится к количеству терапевтического соединения,

такого как противофибриновые антитела, введенного индивидууму либо в виде однократной дозы, либо как часть серии доз, которые эффективны для получения или содействия желаемому терапевтическому эффекту, либо отдельно, либо в сочетании с другим терапевтическим способом. Примерами желаемого терапевтического эффекта являются усиление иммунного ответа, замедление или задержка развития опухоли; стабилизация заболевания; улучшение одного или нескольких симптомов. Эффективное количество может быть введено в одной или нескольких дозах.

[0074] Термин «лечение» (и его варианты) относится к клиническому вмешательству в попытке изменить естественное течение заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в этом. Лечение можно проводить в ходе клинической патологии. Желательные эффекты лечения включают предотвращение рецидива заболевания, облегчение симптомов, уменьшение любых прямых или косвенных патологических последствий заболевания, предотвращение метастазирования, снижение скорости прогрессирования заболевания, улучшение или паллиативность болезненного состояния, а также ремиссию или улучшение прогноза.

[0075] Термин «достаточное количество» означает количество, достаточное для достижения желаемого эффекта, например, количество, достаточное для модуляции иммунного ответа у субъекта.

[0076] В рамках настоящего изобретения термин «субъект» или «индивидуум» означает млекопитающее. Типичные субъекты включают людей, обезьян, собак, кошек, мышей, крыс, коров, лошадей, верблюдов, коз, кроликов и овец. В некоторых вариантах осуществления субъектом является человек. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется заболевание или состояние, которое можно лечить с помощью антитела, представленного в настоящем изобретении. В некоторых аспектах заболевание или состояние представляет собой рак. В некоторых аспектах заболевание или состояние представляет собой вирусную инфекцию.

[0077] Термин «*in vitro*» относится к процессам, которые происходят в живой клетке, растущей отдельно от живого организма, например, растущей в культуре ткани.

[0078] Термин «*in vivo*» относится к процессам, которые происходят в живом организме.

[0079] Термин «вкладыш в упаковку» использован для обозначения инструкций, обычно включенных в коммерческие упаковки терапевтических или диагностических продуктов (например, наборов), которые содержат информацию о показаниях, применении, дозировке, введении, комбинированной терапии, противопоказаниях и/или предупреждениях относительно использования таких терапевтических или диагностических продуктов.

[0080] Термин «фармацевтическая композиция» относится к препарату, который находится в такой форме, которая обеспечивает эффективность биологической активности содержащегося в нем активного ингредиента при лечении субъекта, и который не содержит дополнительных компонентов, неприемлемо токсичных для субъекта в количествах,

предусмотренных в фармацевтической композиции.

[0081] Термины «совместное введение», «совместно вводить» и «в сочетании» включают введение двух или более терапевтических средств либо одновременно, совместно или последовательно в течение каких-либо конкретных временных ограничений. В одном варианте осуществления средства одновременно присутствуют в клетке или в организме субъекта или одновременно оказывают свое биологическое или терапевтическое действие. В одном варианте осуществления терапевтические средства находятся в одной и той же композиции или стандартной дозированной форме. В других вариантах осуществления терапевтические средства находятся в отдельных композициях или стандартных дозированных формах. В некоторых вариантах осуществления первое средство можно вводить до введения второго терапевтического средства.

[0082] Термины «модулировать» и «модуляция» относятся к уменьшению или ингибированию или, альтернативно, активации или увеличению указанной переменной.

[0083] Термины «увеличить» и «активировать» относятся к увеличению указанной переменной на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, в 2 раза, в 3 раза, в 4 раза, в 5 раз, в 10 раз, в 20 раз, в 50 раз, в 100 раз или более.

[0084] Термины «снижать» и «ингибировать» относятся к уменьшению указанной переменной на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, в 2 раза, в 3 раза, в 4 раза, в 5 раз, в 10 раз, в 20 раз, в 50 раз, в 100 раз или более.

[0085] Термин «приблизительно» указывает и охватывает указанное значение и диапазон выше и ниже этого значения. В некоторых вариантах осуществления термин «приблизительно» указывает обозначенное значение $\pm 10\%$, $\pm 5\%$ или $\pm 1\%$. В некоторых вариантах осуществления, где это применимо, термин «приблизительно» указывает обозначенное значение (значения) \pm одно стандартное отклонение от этого значения (значений).

[0086] Термин «изменять отклик» относится к активации передачи сигналов рецептора для индукции биологического ответа, связанного с активацией рецептора. «Агонист» - это вещество, которое связывается с рецептором и изменяет его отклик.

[0087] Термин «проиводействовать» относится к ингибированию передачи сигналов рецептора с целью ингибирования биологического ответа, связанного с активацией рецептора. «Антагонист» представляет собой элемент, который связывается с рецептором и противодействует ему.

[0088] Для любой из структурных и функциональных характеристик, описанных в настоящем изобретении, в данной области известны способы определения этих характеристик.

[0089] Термин «необязательно» при последовательном использовании означает включение от одной до всех перечисленных комбинаций и предполагает все подкомбинации.

[0090] Термин «аминокислота» относится к двадцати обычным встречающимся в природе аминокислотам. Встречающиеся в природе аминокислоты включают аланин (Ala;

A), аргинин (Arg; R), аспарагин (Asn; N), аспарагиновую кислоту (Asp; D), цистеин (Cys; C); глутаминовую кислоту (Glu; E), глутамин (Gln; Q), глицин (Gly; G); гистидин (His; H), изолейцин (Ile; I), лейцин (Leu; L), лизин (Lys; K), метионин (Met; M), фенилаланин (Phe; F), пролин (Pro; P), серин (Ser; S), треонин (Thr; T), триптофан (Trp; W), тирозин (Tyr; Y) и валин (Val; V).

[0091] Термин «аффинность» относится к силе суммы нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, антитела) и ее партнером по связыванию (например, антигеном или эпитопом). Если не указано иное, в настоящем изобретении термин «аффинность» относится к внутренней аффинности связывания, которая отражает взаимодействие 1:1 между членами пары связывания (например, антитело и антиген или эпитоп).

[0092] Термин « k_d » (сек^{-1}) в рамках настоящего изобретения относится к константе скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Это значение также называется значением k_{off} .

[0093] Термин « k_a » ($\text{M}^{-1} \times \text{сек}^{-1}$) в рамках настоящего изобретения относится к константе скорости ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Это значение также называется значением k_{on} .

[0094] Термин « K_D » (M) в рамках настоящего изобретения относится к константе равновесия диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. $K_D = k_d/k_a$. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела описана с точки зрения K_D для взаимодействия между таким антителом и его антигеном. Для ясности, как известно в данной области, меньшее значение K_D указывает на более высокое аффинное взаимодействие, тогда как большее значение K_D указывает на более низкое аффинное взаимодействие.

[0095] Термин « K_A » (M^{-1}) в рамках настоящего изобретения относится к константе равновесия ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. $K_A = k_a/k_d$.

[0096] Термин «антитело» использован в данном документе в самом широком смысле и включает определенные типы молекул иммуноглобулина, содержащие один или несколько антигенсвязывающих доменов, которые специфически связываются с антигеном или эпитопом. Антитело, в частности, включает интактные антитела (например, интактные иммуноглобулины), фрагменты антител и мультиспецифические антитела.

[0097] «Антитело к фибрину», «противофибриновые антитела» или «антитело, специфичное к фибрину» представляет собой антитело согласно настоящему изобретению которое специфически связывается с антигеном фибрином. В некоторых вариантах осуществления антитело связывает внеклеточный домен фибрина. В некоторых вариантах осуществления антитело к фибрину, согласно настоящему изобретению, связывается с эпитопом фибрина, который консервативен между белками фибрина или среди белков фибрина разных видов.

[0098] Термин «эпитоп» означает часть антигена, которая специфически связывается с антителом.

[0099] Термин «гипервариабельная область» или «HVR» в рамках настоящего изобретения относится к каждой из областей вариабельного домена антитела, которые являются гипервариабельными по последовательности и/или образуют структурно определенные петли («гипервариабельные петли»).

[00100] Термин «антигенсвязывающий домен» означает часть антитела, которая способна специфически связываться с антигеном или эпитопом.

[00101] Термин «химерное антитело» относится к антителу, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи получена из конкретного источника или вида, тогда как остальная часть тяжелой и/или легкой цепи получена из другого источника или вида.

[00102] Термин «антитело человека» относится к антителу, которое обладает аминокислотной последовательностью, соответствующей последовательности антитела, продуцируемого человеком или человеческой клеткой, или полученного из нечеловеческого источника, в котором использован репертуар человеческих антител или человеческие клетки. последовательности, кодирующие антитела (например, полученные из человеческих источников или сконструированные de novo). Человеческие антитела исключают гуманизированные антитела.

[00103] Термин «гуманизированное антитело» относится к белку, имеющему последовательность, которая отличается от последовательности антитела, полученного из вида, отличного от человека, одной или более аминокислотными заменами, делециями и/или добавлениями, так что гуманизированное антитело с меньшей вероятностью индуцирует иммунный ответ и/или индуцирует менее тяжелый иммунный ответ по сравнению с антителом нечеловеческого вида, когда его вводят человеку.

[00104] Термин «мультиспецифическое антитело» относится к антителу, которое содержит два или более различных антигенсвязывающих домена, которые совместно специфически связывают два или более различных эпитопа.

[00105] «Моноспецифическое антитело» представляет собой антитело, которое содержит один или несколько сайтов связывания, которые специфически связываются с одним эпитопом. Примером моноспецифического антитела является встречающаяся в природе молекула IgG, которая, хотя и является двухвалентной (т.е. имеет два антигенсвязывающих домена), распознает один и тот же эпитоп в каждом из двух антигенсвязывающих доменов. Специфичность связывания может присутствовать в любой подходящей валентности.

[00106] Термин «моноклональное антитело» относится к антителу из популяции по существу гомогенных антител. Популяция по существу гомогенных антител включает антитела, которые по существу схожи и связывают один и тот же эпитоп (эпитопы), за исключением вариантов, которые обычно могут возникать во время выработки моноклонального антитела. Такие варианты обычно присутствуют лишь в незначительных количествах. Моноклональное антитело обычно получают способом, который включает отбор одного антитела из множества антител. Например, процесс отбора может представлять собой отбор уникального клона из множества клонов, таких как пул клонов

гибридомы, фаговых клонов, клонов дрожжей, бактериальных клонов или других клонов рекомбинантной ДНК. Выбранное антитело можно дополнительно изменить, например, для улучшения аффинности к мишени («созревание аффинности»), для гуманизации антитела, для улучшения его выработки в клеточной культуре и/или для снижения его иммуногенности у субъекта.

[00107] Термин «одноцепочечная» относится к молекуле, содержащей мономеры аминокислот, линейно связанные пептидными связями. В конкретном таком варианте осуществления С-конец легкой цепи Fab соединен с N-концом тяжелой цепи Fab в одноцепочечной молекуле Fab. Как более подробно описано в настоящем изобретении, scFv имеет переменный домен легкой цепи (VL), соединенный от его С-конца с N-концом переменного домена тяжелой цепи (VH) полипептидной цепью. Альтернативно, scFv состоит из полипептидной цепи, где С-конец VH соединен с N-концом VL полипептидной цепью.

[00108] «Фрагмент Fab» (также называемый антигенсвязывающим фрагментом) содержит константный домен (CL) легкой цепи и первый константный домен (CH1) тяжелой цепи вместе с переменными доменами VL и VH на легкой и тяжелой цепях, соответственно. Переменные домены содержат определяющие комплементарность петли (CDR, также называемые гиперпеременной областью), которые участвуют в связывании антигена. Фрагменты Fab' отличаются от фрагментов Fab добавлением нескольких остатков на карбокси-конце домена CH1 тяжелой цепи, включая один или несколько цистеинов из шарнирной области антитела.

[00109] Фрагменты «F(ab')₂» содержат два фрагмента Fab', соединенных вблизи шарнирной области дисульфидными связями. Фрагменты F(ab')₂ можно получить, например, рекомбинантными способами или расщеплением пепсином интактного антитела. Фрагменты F(ab') можно диссоциировать, например, обработкой β-меркаптоэтанолом.

[00110] Фрагменты «Fv» содержат нековалентно связанные димеры одного переменного домена тяжелой цепи и одного переменного домена легкой цепи.

[00111] «Одноцепочечный Fv» или «sFv» или «scFv» содержит домены VH и VL антитела, где эти домены присутствуют в одной полипептидной цепи. В одном варианте осуществления полипептид Fv дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами VH и VL, который обеспечивает образование нужной структуры scFv для связывания антигена. Обзор scFv см. в Pluckthun *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994). HER2 antibody scFv fragments are described in WO93/16185; U.S. Pat. No. 5,571,894; and U.S. Pat. No. 5,587,458.

[00112] Фрагменты «scFv-Fc» содержат scFv, присоединенный к домену Fc. Например, домен Fc может быть присоединен к С-концу scFv. Домен Fc может следовать за VH или VL, в зависимости от ориентации переменных доменов в scFv (т.е. VH-VL или VL-VH). Можно использовать любой подходящий домен Fc, известный в данной области или описанный в настоящем изобретении. В некоторых случаях домен Fc содержит домен

Fc IgG4.

[00113] Термин «однодоменное антитело» или «sdAb» относится к молекуле, в которой один переменный домен антитела специфически связывается с антигеном без присутствия другого переменного домена. Однодоменные антитела и их фрагменты описаны в Arabi Ghahroudi et al., FEBS Letters, 1998, 414:521-526 и Muyldermans et al., Trends in Biochem. Sci., 2001, 26:230-245, каждый из которых полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Однодоменные антитела также известны как sdAb или нанотела. SdAb довольно стабильны и их легко экспрессировать в качестве партнера слияния с Fc-цепью антитела (Harmsen MM, De Haard HJ (2007). "Properties, production, and applications of camelid single-domain antibody fragments". Appl. Microbiol Biotechnol. 77(1): 13-22).

[00114] Термины «полноразмерное антитело», «интактное антитело» и «цельное антитело» использованы в рамках настоящего изобретения взаимозаменяемо для обозначения антитела, имеющего структуру, по существу сходную со структурой встречающегося в природе антитела, и имеющего тяжелые цепи, которые содержат область Fc. Например, применительно к молекуле IgG «полноразмерное антитело» представляет собой антитело, которое содержит две тяжелые цепи и две легкие цепи.

[00115] Термин «фрагмент антитела» относится к антителу, которое содержит часть интактного антитела, такую как антигенсвязывающая или переменная область интактного антитела. Фрагменты антител включают, например, фрагменты Fv, фрагменты Fab, фрагменты F(ab')₂, фрагменты Fab', фрагменты scFv (sFv) и фрагменты scFv-Fc.

[00116] Термин «домен Fc» или «область Fc» в рамках настоящего изобретения использован для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит по меньшей мере часть константной области. Этот термин включает области Fc с нативной последовательностью и варианты областей Fc.

[00117] Термин «по существу очищенный» относится к конструкции, описанной в настоящем изобретении, или ее варианту, который может по существу содержать или не содержать компоненты, обнаруженные в природной среде, которые обычно сопровождают белок или взаимодействуют с ним, т.е. в нативной клетке или клетке-хозяине в случае гетеромультимера, полученного рекомбинантным путем, который в некоторых вариантах осуществления по существу не содержит клеточного материала, содержит препараты белка, содержащие менее приблизительно 30%, менее приблизительно 25%, менее приблизительно 20%, менее приблизительно 15%, менее приблизительно 10%, менее приблизительно 5%, менее приблизительно 4%, менее приблизительно 3%, менее приблизительно 2% или менее приблизительно 1% (по сухой массе) загрязняющего белка.

[00118] Термин «процент идентичности» в контексте двух или более последовательностей нуклеиновых кислот или полипептидов относится к двум или более последовательностям, которые имеют определенный процент нуклеотидов или аминокислотных остатков, которые являются одинаковыми при сравнении и выровнены для максимального соответствия, измеренного с использованием одного из алгоритмов

сравнения последовательностей, описанных ниже (например, с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программное обеспечение BLAST, BLASTP, BLASTN, BLAST-2, ALIGN, MEGALIGN (DNASTAR), CLUSTALW, CLUSTAL OMEGA или MUSCLE или другие алгоритмы, доступные специалистам) или путем визуального осмотра. Программное обеспечение для проведения анализа BLAST общедоступно через Национальный центр биотехнологической информации (ncbi.nlm.nih.gov). Специалисты в данной области могут определить подходящие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. В зависимости от применения процент «идентичности» может иметься на участке сравниваемой последовательности, например, на функциональном домене, или, альтернативно, иметься на всей длине двух сравниваемых последовательностей.

[00119] Для сравнения последовательностей обычно одна последовательность выступает в качестве эталонной последовательности, с которой сравнивают тестовые последовательности. При использовании алгоритма сравнения последовательностей в компьютер вводят тестовые и эталонные последовательности, при необходимости назначают координаты подпоследовательности и обозначают параметры программы алгоритма последовательности. Алгоритм сравнения последовательностей затем вычисляет процент идентичности последовательностей для тестовой последовательности (последовательностей) относительно эталонной последовательности на основе назначенных параметров программы.

[00120] Оптимальное выравнивание последовательностей для сравнения можно провести, например, с помощью алгоритма локальной гомологии Smith & Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482 (1981), с помощью алгоритма выравнивания гомологии Needleman & Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443 (1970), способом поиска подобия Pearson & Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444 (1988), путем компьютеризованного осуществления этих алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в пакете программного обеспечения Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.) или путем визуального осмотра (см. в целом Ausubel et al., ниже).

[00121] Указанные в данном документе диапазоны следует понимать как сокращение для всех значений в пределах диапазона, включая указанные конечные точки. Например, под диапазоном от 1 до 50 следует понимать любое число, комбинацию цифр или поддиапазон из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 и 50.

[00122] Следует отметить, что при использовании в описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают ссылки на множественное число, если контекст явно не требует иного.

Антифибриновые антитела

Структура антитела

[00123] В настоящей заявке предложены антитела и композиции, содержащие антитело, которое связывает белок фибрин.

[00124] Известные гены иммуноглобулинов включают гены константной области каппа, лямбда, альфа, гамма, дельта, эpsilon и мю, а также множество генов вариабельной области иммуноглобулина. Легкие цепи классифицируют как каппа или лямбда. «Класс» антитела или иммуноглобулина относится к типу константного домена или константной области, принадлежащей его тяжелой цепи. Существует пять основных классов антител: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, и некоторые из них можно дополнительно разделить на подклассы (изотипы), например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Константные домены тяжелой цепи, соответствующие различным классам иммуноглобулинов, называются α , δ , ϵ , γ и μ , соответственно.

[00125] Типичная структурная единица иммуноглобулина (антитела) состоит из двух пар полипептидных цепей, каждая пара имеет одну «легкую» (приблизительно 25 кДа) и одну «тяжелую» цепь (приблизительно 50-70 кДа). N-концевой домен каждой цепи определяет вариабельную область, содержащую приблизительно от 100 до 110 или более аминокислот, главным образом ответственных за распознавание антигена. Термины вариабельная область легкой цепи (VL) и вариабельная область тяжелой цепи (VH) относятся к этим доменам легкой и тяжелой цепи, соответственно. Тяжелая цепь IgG1 состоит из доменов VH, CH1, CH2 и CH3, соответственно, от N до C-конца. Легкая цепь состоит из доменов VL и CL от N до C-конца. Тяжелая цепь IgG1 содержит шарнир между доменами CH1 и CH2. В некоторых вариантах осуществления конструкции иммуноглобулина содержат по меньшей мере один домен иммуноглобулина из IgG, IgM, IgA, IgD или IgE, соединенный с терапевтическим полипептидом. В некоторых вариантах осуществления домен иммуноглобулина, обнаруженный в антителе, представленном в настоящем изобретении, получен из конструкции на основе иммуноглобулина, такой как ди-антитело или нанотело, или получен из нее. В некоторых вариантах осуществления конструкции иммуноглобулина согласно настоящему изобретению содержат по меньшей мере один домен иммуноглобулина из антитела с тяжелой цепью, такого как антитело верблюдовых. В некоторых вариантах осуществления конструкции иммуноглобулина, предложенные в настоящем изобретении, содержат по меньшей мере один домен иммуноглобулина из антитела млекопитающего, такого как бычье антитело, человеческое антитело, антитело верблюда, антитело мыши или любое химерное антитело.

[00126] В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в настоящем изобретении, содержат тяжелую цепь. В одном варианте осуществления тяжелая цепь представляет собой IgA. В одном варианте осуществления тяжелая цепь представляет собой IgD. В одном варианте осуществления тяжелая цепь представляет собой IgE. В одном варианте осуществления тяжелая цепь представляет собой IgG. В одном варианте осуществления тяжелая цепь представляет собой IgM. В одном варианте осуществления тяжелая цепь представляет собой IgG1. В одном варианте осуществления

тяжелая цепь представляет собой IgG2. В одном варианте осуществления тяжелая цепь представляет собой IgG3. В одном варианте осуществления тяжелая цепь представляет собой IgG4. В одном варианте осуществления тяжелая цепь представляет собой IgA1. В одном варианте осуществления тяжелая цепь представляет собой IgA2.

[00127] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG3. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG4.

[00128] Обычно нативные четырехцепочечные антитела содержат шесть HVR; три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3). HVR обычно содержат аминокислотные остатки из гипервариабельных петель и/или из определяющих комплементарность областей (CDR), где последние обладают наибольшей вариабельностью последовательности и/или участвуют в распознавании антигена. За исключением CDR1 в VH, CDR обычно содержат аминокислотные остатки, которые образуют гипервариабельные петли. Гипервариабельные области (HVR) также называют «определяющими комплементарность областями» (CDR), и эти термины использованы в данном документе взаимозаменяемо по отношению к частям вариабельной области, которые образуют антигенсвязывающие области. Эта конкретная область была описана Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, Sequences of Proteins of Immunological Interest (1983) and by Chothia et al., J Mol Biol 196:901-917 (1987), где определения включают перекрытие или подмножества аминокислотных остатков при сравнении друг с другом. Тем не менее, применение любого определения для обозначения CDR антитела или его вариантов должно находиться в пределах объема термина, определенного и используемого в настоящем изобретении. Точные количества остатков, которые охватывают конкретный CDR, будут варьироваться в зависимости от последовательности и размера CDR. Специалисты в данной области могут обычным способом определить, какие остатки содержат конкретный CDR, учитывая аминокислотную последовательность вариабельной области антитела.

[00129] Границы аминокислотной последовательности CDR могут быть определены специалистом в данной области с использованием любой из ряда известных схем нумерации, включая схемы, описанные Kabat et al., выше (схема нумерации «Kabat»); Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol., 273:927-948 (схема нумерации «Chothia»); MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol. 262:732-745 (схема нумерации «Contact»); Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol., 2003, 27:55-77 (схема нумерации «IMGT»); и Honegge and Plückthun, J. Mol. Biol., 2001, 309:657-7 (схема нумерации «АНо»); каждый из которых полностью включен посредством ссылки.

[00130] В Таблице А представлены положения CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, определенные по схемам Kabat и Chothia. Для CDR-H1 нумерация остатков представлена с использованием схем нумерации Kabat и Chothia.

[00131] CDR можно назначить, например, с использованием программного

обеспечения для нумерации антител, такого как Abnum, доступного по адресу www.bioinf.org.uk/abs/abnum/ и описанного в Abhinandan and Martin, Immunology, 2008, 45:3832-3839, полностью включенного посредством ссылки.

Таблица А. Остатки в CDR согласно схемам нумерации Kabat и Chothia.

Таблица А		
CDR	Kabat	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97
H1 (Нумерация Kabat)	H31-H35B	H26-H32 or H34*
H1 (Нумерация Chothia)	H31-H35	H26-H32
H2	H50-H65	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102

* С-конец CDR-H1, пронумерованный с использованием соглашения о нумерации Kabat, варьируется от H32 до H34, в зависимости от длины CDR.

[00132] «Схему нумерации EU» обычно используют при упоминании остатка в константной области тяжелой цепи антитела (например, как сообщалось Kabat et al., см. выше). Если не указано иное, схему нумерации EU используют для обозначения остатков в константных областях тяжелой цепи антител, описанных в данном документе.

[00133] Одним из примеров антигенсвязывающего домена является антигенсвязывающий домен, образованный димером VH-VL антитела. Другим примером антигенсвязывающего домена является антигенсвязывающий домен, образованный путем диверсификации определенных петель из десятого домена фибронектина типа III аднектина. Антигенсвязывающий домен может содержать CDR 1, 2 и 3 тяжелой цепи в указанном порядке; и CDR 1, 2 и 3 легкой цепи в указанном порядке.

[00134] Эпитопы часто состоят из доступных на поверхности аминокислотных остатков и/или боковых цепей сахаров и могут иметь специфические трехмерные характеристики структуры, а также специфические характеристики заряда. Конформационные и неконформационные эпитопы различаются тем, что в присутствии денатурирующих растворителей связывание с первыми, но не со вторыми, может быть потеряно. Эпитоп может содержать аминокислотные остатки, которые непосредственно участвуют в связывании, и другие аминокислотные остатки, которые непосредственно в связывании не участвуют. Эпитоп, с которым связывается антитело, может быть определен с использованием известных способов определения эпитопа, таких как, например, тестирование связывания антитела с вариантами фибрина с различными точечными мутациями или с химерными вариантами фибрина.

[00135] Для скрининга антител, которые связываются с эпитопом целевого антигена, связанного представляющим интерес антителом (например, фибрином), можно провести

рутинный анализ перекрестного блокирования, такой как описан в *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988). Альтернативно или дополнительно картирование эпитопов можно осуществлять способами, известными в данной области.

[00136] Химерные антитела представляют собой антитела, в которых часть тяжелой и/или легкой цепи получена из конкретного источника или вида, тогда как остальная часть тяжелой и/или легкой цепи получена из другого источника или вида.

[00137] Человеческие антитела представляют собой антитела, которые обладают аминокислотной последовательностью, соответствующей последовательности антитела, продуцируемого человеком или человеческой клеткой, или полученного из нечеловеческого источника с использованием репертуара человеческих антител или последовательностей, кодирующих человеческие антитела (например, полученные из человеческих источников или разработанные *de novo*). Человеческие антитела исключают гуманизированные антитела.

[00138] Гуманизированное антитело имеет последовательность, которая отличается от последовательности антитела, полученного у вида, отличного от человека, одной или более аминокислотными заменами, делециями и/или добавлениями, так что гуманизированное антитело с меньшей вероятностью будет индуцировать иммунный ответ и/или индуцирует менее тяжелый иммунный ответ по сравнению с антителом нечеловеческого вида, когда его вводят человеку. В одном варианте осуществления определенные аминокислоты в каркасных и константных доменах тяжелой и/или легкой цепей антитела, отличного от человеческого вида, мутированы для получения гуманизированного антитела. В другом варианте осуществления константный домен (домены) человеческого антитела слиты с переменным доменом (доменами) вида, отличного от человека. В другом варианте осуществления один или несколько аминокислотных остатков в одной или нескольких последовательностях CDR антитела, не являющегося человеком, изменены для снижения вероятной иммуногенности антитела, не являющегося человеком, при его введении человеку, при этом измененные аминокислотные остатки либо не являются критическими для иммуноспецифического связывания антитела с его антигеном, либо внесенные изменения в аминокислотной последовательности являются консервативными изменениями, так что связывание гуманизированного антитела с антигеном не сильно хуже, чем связывание нечеловеческого антитела с антигеном. Примеры того, как получить гуманизированные антитела, можно найти в патентах США №№ 6054297, 5886152 и 5877293. Более подробную информацию см. Jones et al., *Nature*, 1986, 321:522-525; Riechmann et al., *Nature*, 1988, 332:323-329; and Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 1992, 2:593-596, каждый из которых полностью включен посредством ссылки.

[00139] Два или более разных эпитопа могут быть эпитопами одного и того же антигена (например, одной молекулы фибрина, экспрессируемой клеткой) или разных антигенов (например, разных молекул фибрина, экспрессируемых одной и той же клеткой,

или молекулы фибрина и молекулы, не являющейся фибрином). Некоторые аспекты относятся к мультиспецифическому антителу, которое связывает два разных эпитопа (т.е. «биспецифическое антитело»). Некоторые аспекты относятся к мультиспецифическому антителу, которое связывает три разных эпитопа (т.е. «триспецифическое антитело»).

[00140] Антифибриновые антитела могут включать антитела согласно настоящему изобретению такие как клоны, представленные на фигурах и/или таблицах. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит альтернативный каркас. В некоторых вариантах осуществления антитело состоит из альтернативного каркаса. В некоторых вариантах осуществления антитело состоит по существу из альтернативного каркаса. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело состоит из фрагмента антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело состоит по существу из фрагмента антитела.

[00141] В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой моноклональные антитела.

[00142] В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой поликлональные антитела.

[00143] В некоторых вариантах осуществления антитела продуцируются гибридомами. В других вариантах осуществления антитела продуцируются рекомбинантными клетками, сконструированными для экспрессии нужных переменных и константных доменов.

[00144] В некоторых вариантах осуществления антитела могут представлять собой одноцепочечные антитела или другие производные антител, сохраняющие антигенную специфичность и нижнюю шарнирную область, или их вариант.

[00145] В некоторых вариантах осуществления антитела могут представлять собой полифункциональные антитела, рекомбинантные антитела, человеческие антитела, гуманизированные антитела, их фрагменты или варианты. В конкретных вариантах осуществления фрагмент антитела или его производное выбран из фрагмента Fab, фрагмента Fab², CDR и ScFv.

[00146] В некоторых вариантах осуществления антитела способны образовывать иммунный комплекс. Например, иммунный комплекс может представлять собой опухолевую клетку, покрытую антителами.

[00147] Для сравнения последовательностей, как правило, одна последовательность действует как эталонная последовательность, с которой сравниваются тестовые последовательности. При использовании алгоритма сравнения последовательностей в компьютер вводят тестовые и эталонные последовательности, при необходимости назначают координаты подпоследовательности и обозначают параметры программы алгоритма последовательности. Алгоритм сравнения последовательностей затем вычисляет процент идентичности последовательностей для тестовой последовательности (последовательностей) относительно эталонной последовательности на основе назначенных параметров программы.

[00148] Оптимальное выравнивание последовательностей для сравнения можно провести, например, с помощью алгоритма локальной гомологии Smith & Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482 (1981), с помощью алгоритма выравнивания гомологии Needleman & Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443 (1970), способом поиска подобия Pearson & Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444 (1988), путем компьютеризированного осуществления этих алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в пакете программного обеспечения Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis) или путем визуального осмотра (см. в целом Ausubel et al., ниже).

[00149] Одним примером алгоритма, который подходит для определения процента идентичности и сходства последовательностей, является алгоритм BLAST, который описан Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990). Программное обеспечение для проведения анализа BLAST общедоступно через Национальный центр биотехнологической информации (www.ncbi.nlm.nih.gov/).

Последовательности антител к фибрину

VH-домены

[00150] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH, выбранную из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH. SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 15. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит Последовательность VH SEQ ID NO: 17. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 19. В некоторых вариантах осуществления, антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 20.

[0237] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему

изобретению содержит последовательность VH, идентичную по меньшей мере приблизительно на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% иллюстративной последовательности VH, представленной в SEQ ID №№: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20, имеющую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены de novo в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

Домены VL

[0238] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VL, выбранную из SEQ ID NO: 21.

[0239] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VL, идентичную по меньшей мере приблизительно на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% иллюстративной последовательности VL, представленной в SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 21, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены de novo в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

Комбинации VH-VL

[0240] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH, выбранную из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11,

12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20; и последовательность VL, выбранную из SEQ ID NO: 21.

[0241] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 7 и последовательность VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 8 и последовательность VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 9 и последовательность VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 10 и последовательность VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 11 и VL. последовательность SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 12 и последовательность VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 13 и последовательность VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 14 и последовательность VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 15 и последовательность VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 16 и последовательность VL SEQ ID NO: 16 и последовательность VL SEQ ID NO: 21. : 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 17 и последовательность VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 18 и последовательность VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 19 и последовательность VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH SEQ ID NO: 20 и последовательность VL SEQ ID NO: 21.

[0242] В некоторых аспектах любую из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20 можно комбинировать с любой из SEQ ID NO: 21.

[0243] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH, идентичную по меньшей мере приблизительно на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% иллюстративной последовательности VH, представленной в SEQ ID №: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20; и последовательность VL, идентичную по меньшей мере приблизительно на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% иллюстративной последовательности VL, представленной в SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO:

7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 аминокислотных замен, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 21, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

CDR

[0244] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит от одного до трех CDR домена VH, выбранного из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит от двух до трех CDR домена VH, выбранного из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит три CDR домена VH, выбранные из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20. В некоторых аспектах CDR являются иллюстративными CDR. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно Kabat. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно Chothia. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно AbM. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно Contact. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно IMGT.

[0245] В некоторых вариантах осуществления CDR представляют собой CDR, идентичные по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1, CDR-H2 или CDR-H3 из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20. В некоторых вариантах осуществления CDR-H1 представляет собой CDR-H1 домена VH, выбранного из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления CDR-H2 представляет собой CDR-H2 домена VH, выбранного из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 домена VH, выбранного из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают

из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0246] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит от одного до трех CDR домена VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит от двух до трех CDR домена VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит три CDR домена VL SEQ ID NO: 21. В некоторых аспектах CDR представляют собой иллюстративные CDR. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно Kabat. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно Chothia. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно AbM. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно Contact. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно IMGT.

[0247] В некоторых вариантах осуществления CDR представляют собой CDR, идентичные по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L1, CDR-L2 или CDR-L3 из SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления CDR-L1 представляет собой CDR-L1 домена VL SEQ ID NO: 21, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления CDR-L2 представляет собой CDR-L2 домена VL SEQ ID NO: 21, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 представляет собой CDR-L3 домена VL SEQ ID NO: 21, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0248] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит от одного до трех CDR домена VH, выбранного из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20, и от одного до трех CDR домена VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит от двух до трех CDR домена VH, выбранного из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13,

14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20, и от двух до трех CDR домена VL SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит три CDR домена VH, выбранного из SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20, и три CDR домена VL SEQ ID NO: 21. В некоторых аспектах CDR являются иллюстративными CDR. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно Kabat. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно Chothia. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно AbM. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно Contact. В некоторых аспектах CDR являются CDR согласно IMGT.

[0249] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, 28, 29 и 30. В некоторых аспектах CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, 28, 29 и 30. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, 28, 29 и 30, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0250] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 24. В некоторых аспектах CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 24, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0251] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему

изобретению содержит CDR-НЗ, выбранную из SEQ ID NO: 25. В некоторых аспектах CDR-НЗ идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-НЗ SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления CDR-НЗ представляет собой CDR-НЗ, выбранную из SEQ ID NO: 25, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0252] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-НЗ, выбранную из SEQ ID NO: 26. В некоторых аспектах CDR-НЗ идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-НЗ SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления CDR-НЗ представляет собой CDR-НЗ, выбранную из SEQ ID NO: 26, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0253] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-НЗ, выбранную из SEQ ID NO: 27. В некоторых аспектах CDR-НЗ идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-НЗ SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления CDR-НЗ представляет собой CDR-НЗ, выбранную из SEQ ID NO: 27, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного

в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0254] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-Н3, выбранную из SEQ ID NO: 28. В некоторых аспектах CDR-Н3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-Н3 SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления CDR-Н3 представляет собой CDR-Н3, выбранную из SEQ ID NO: 28, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0255] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-Н3, выбранную из SEQ ID NO: 29. В некоторых аспектах CDR-Н3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-Н3 SEQ ID NO: 29. В некоторых вариантах осуществления CDR-Н3 представляет собой CDR-Н3, выбранную из SEQ ID NO: 29, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0256] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-Н3, выбранную из SEQ ID NO: 30. В некоторых аспектах CDR-Н3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-Н3 SEQ ID NO: 30. В некоторых вариантах осуществления CDR-Н3 представляет собой CDR-Н3, выбранную из SEQ ID NO: 30, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют

собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0257] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3. В некоторых аспектах CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3, выбранную из SEQ ID NO: 3, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0258] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых аспектах CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащий до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0259] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему

изобретению содержит CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2. В некоторых аспектах CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления CDR-H2 представляет собой CDR-H2, выбранную из SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0260] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 24 и CDR-H2 SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 25, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 24, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, и CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 24, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; и CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0261] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 25 и CDR-H2 SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3

SEQ ID NO: 25, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 25, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, и CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 25, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; и CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0262] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 26 и CDR-H2 SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 26, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 26, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, и CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 26, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; и CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из

последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены de novo в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0263] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 27 и CDR-H2 SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 27, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 27, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, и CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 27, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; и CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены de novo в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0264] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 28 и CDR-H2 SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 28, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 28, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, и CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 28, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; и CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах

осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0265] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 29 и CDR-H2 SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 29, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 29, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, и CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 29, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; и CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0266] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 30 и CDR-H2 SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 30, CDR-H2 SEQ ID NO: 2 и CDR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 30, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, и CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-

H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 30, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; и CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0267] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-L3 SEQ ID NO: 6. В некоторых аспектах CDR-L3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L3 SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 представляет собой CDR-L3 SEQ ID NO: 6, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0268] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-L2 SEQ ID NO: 5. В некоторых аспектах CDR-L2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L2 SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления CDR-L2 представляет собой CDR-L2 SEQ ID NO: 5, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или

любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0269] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых аспектах CDR-L1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-L1 представляет собой CDR-L1 SEQ ID NO: 4, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0270] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-L3 SEQ ID NO: 6 и CDR-L2 SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L2 SEQ ID NO: 5, и CDR-L1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-L3 представляет собой CDR-L3 SEQ ID NO: 6, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L2 представляет собой CDR-L2 SEQ ID NO: 5, содержащую до 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замен; и CDR-L1 представляет собой CDR-L1 SEQ ID NO: 4, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела согласно настоящему изобретению называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из

последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0271] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 24, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 24, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L2 SEQ ID NO: 5, и CDR-L1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 24, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L3 представляет собой CDR-L3 SEQ ID NO: 6, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L2 представляет собой CDR-L2 SEQ ID NO: 5, содержащую до 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замен; и CDR-L1 представляет собой CDR-L1 SEQ ID NO: 4, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0272] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 25, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 25, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%,

85%, 90% или 95% CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L2 SEQ ID NO: 5, и CDR-L1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 25, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L3 представляет собой CDR-L3 SEQ ID NO: 6, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L2 представляет собой CDR-L2 SEQ ID NO: 5, содержащую до 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замен; и CDR-L1 представляет собой CDR-L1 SEQ ID NO: 4, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0273] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 26, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 26, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L2 SEQ ID NO: 5, и CDR-L1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 26, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L3 представляет собой CDR-L3 SEQ ID NO: 6, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L2 представляет собой CDR-L2 SEQ ID NO: 5, содержащую до 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замен; и CDR-L1 представляет собой CDR-L1 SEQ ID NO: 4, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5 или 6

аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0274] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 27, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 27, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L2 SEQ ID NO: 5, и CDR-L1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 27, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L3 представляет собой CDR-L3 SEQ ID NO: 6, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L2 представляет собой CDR-L2 SEQ ID NO: 5, содержащую до 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замен; и CDR-L1 представляет собой CDR-L1 SEQ ID NO: 4, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0275] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему

изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 28, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 28, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L2 SEQ ID NO: 5, и CDR-L1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 28, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L3 представляет собой CDR-L3 SEQ ID NO: 6, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L2 представляет собой CDR-L2 SEQ ID NO: 5, содержащую до 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замен; и CDR-L1 представляет собой CDR-L1 SEQ ID NO: 4, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0276] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 29, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 29, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L2 SEQ ID NO: 5, и CDR-L1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-

H3 SEQ ID NO: 29, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L3 представляет собой CDR-L3 SEQ ID NO: 6, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L2 представляет собой CDR-L2 SEQ ID NO: 5, содержащую до 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замен; и CDR-L1 представляет собой CDR-L1 SEQ ID NO: 4, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности, представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0277] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H3 SEQ ID NO: 30, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H3 SEQ ID NO: 30, CDR-H2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-L3 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L3 SEQ ID NO: 6, CDR-L2 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L2 SEQ ID NO: 5, и CDR-L1 идентична по меньшей мере приблизительно на 50%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% CDR-L1 SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления CDR-H3 представляет собой CDR-H3 SEQ ID NO: 30, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H2 представляет собой CDR-H2 SEQ ID NO: 2, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аминокислотных замен; CDR-H1 представляет собой CDR-H1 SEQ ID NO: 1, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L3 представляет собой CDR-L3 SEQ ID NO: 6, содержащую до 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен; CDR-L2 представляет собой CDR-L2 SEQ ID NO: 5, содержащую до 1, 2, 3 или 4 аминокислотных замен; и CDR-L1 представляет собой CDR-L1 SEQ ID NO: 4, содержащую до 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных замен. В некоторых аспектах аминокислотные замены представляют собой консервативные аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в этом абзаце, называются в данном документе «вариантами». В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают из последовательности,

представленной в настоящем изобретении, например, путем созревания аффинности, сайт-направленного мутагенеза, случайного мутагенеза или любого другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления такие варианты получают не из последовательности, представленной в настоящем изобретении, и могут, например, быть выделены *de novo* в соответствии с предложенными в данном документе способами получения антител.

[0278] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H3 SEQ ID NO: 24, CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6.

[0279] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H3 SEQ ID NO: 25, CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6.

[0280] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H3 SEQ ID NO: 26, CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6.

[0281] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H3 SEQ ID NO: 27, CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6.

[0282] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H3 SEQ ID NO: 28, CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6.

[0283] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H3 SEQ ID NO: 29, CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6.

[0284] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит CDR-H1 SEQ ID NO: 1, CDR-H2 SEQ ID NO: 2, CDR-H3 SEQ ID NO: 30, CDR-L1 SEQ ID NO: 4, CDR-L2 SEQ ID NO: 5 и CDR-L3 SEQ ID NO: 6.

Эпитопы

[0285] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении описаны выделенные антитела, которые связывают домен γ C фибрина или фибриногена человека, где антитело связывает фибрин человека по любому из аминокислотных остатков Lys 411, Ile 412, Ile 413, Phe 415, Asn 416, Arg 417, Leu 418, Thr 419, Ile 420 и Gly 421. В некоторых вариантах осуществления антитело связывает фибрин человека по меньшей мере с двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью, семью, восемью, девятью или всеми десятью из аминокислотных остатков Lys 411, Ile 412, Ile 413, Phe 415, Asn 416, Arg 417, Leu 418, Thr 419, Ile 420 и Gly 421. В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело связывает фибрин человека по аминокислотным остаткам Lys 411, Ile 412, Ile 413, Phe 415, Asn 416, Arg 417, Leu 418, Thr 419, Ile 420 и Gly 421. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток эпитопа домена γ C фибрина или фибриногена человека связывает паратоп антитела с расстоянием менее 5 ангстрем или менее, 4 ангстрем или менее, 3

ангстрем или менее или 2 ангстрем или менее.

Паратопы

[0286] В некоторых вариантах осуществления антитела согласно настоящему изобретению содержат область VH, содержащую паратоп, который связывает домен γ C фибрина или фибриногена человека, где паратоп содержит любой из аминокислотных остатков Ser 31, Tyr 32, Trp 33, His 35, Trp 47, Leu 50, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ala 93, Ser 94, Ser 95, Lys 96 или Asp 96, Pro 97 или Ala 97, Gly 101, Gly102 и Trp 103. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VH, содержащую паратоп, который содержит по меньшей мере два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать или все семнадцать аминокислотных остатков Ser 31, Tyr 32, Trp 33, His 35, Trp 47, Leu 50, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ala 93, Ser 94, Ser 95, Lys 96 или Asp 96, Pro 97 или Ala 97, Gly 101, Gly102 и Trp 103. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VH, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки Ser 31, Trp 33, His 35, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ser 94, Gly 101, Gly102 и Trp 103. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VH, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки Ser 31, Trp 33, His 35, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ala 93, Ser 94, Lys 96, Pro 97, Gly 101, Gly102 и Trp 103. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VH, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки Ser 31, Tyr 32, Trp 33, His 35, Trp 47, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ser 94, Ser 95, Asp 96, Ala 97, Gly 101, Gly102 и Trp 103.

[0287] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VL, содержащую паратоп, который содержит любой из аминокислотных остатков His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Tyr 49, Gln 50, Ala 91 или Asn 91, Leu 92, Leu 94 и Leu 96. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VL, содержащую паратоп, который содержит по меньшей мере два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или все десять аминокислотных остатков His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Tyr 49, Gln 50, Ala 91 или Asn 91, Leu 92, Leu 94 и Leu 96. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VL, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Gln 50, Leu 92, Leu 94 и Leu 96. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VL, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Gln 50, Asn 91, Leu 92, Leu 94 и Leu 96. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит область VL, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Tyr 49, Gln 50, Ala 91, Leu 92, Leu 94 и Leu 96.

[0288] В некоторых вариантах осуществления паратоп антитела связывает аминокислотные остатки эпитопа домена γ C фибрина или фибриногена человека на расстоянии менее 5 ангстрем или менее, 4 ангстрем или менее, 3 ангстрем или менее, или 2 ангстрем или менее.

Область Fc

[0289] В данной области известны структуры областей Fc различных иммуноглобулинов и содержащиеся в них сайты гликозилирования. См. Schroeder and Cavacini, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010, 125:S41-52, полностью включенный посредством ссылки. Область Fc может представлять собой встречающуюся в природе область Fc или область Fc, модифицированную, как описано в данной области или где-либо еще в настоящем раскрытии.

[0290] Если не указано иное, нумерация аминокислотных остатков в области Fc или константной области соответствует системе нумерации EU, также называемой индексом EU, как описано Kabat et al, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991. «Полипептид Fc» димерного Fc, в рамках настоящего изобретения, относится к одному из двух полипептидов, образующих димерный домен Fc, т.е. к полипептиду, содержащему С-концевые константные области тяжелой цепи иммуноглобулина, способной к покоящейся самоассоциации. Например, полипептид Fc димерного IgG Fc содержит последовательность константного домена IgG CH2 и IgG CH3. Fc может относиться к классу IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, и некоторые из них могут быть дополнительно разделены на подклассы (изотипы), например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2.

[0291] Термины «рецептор Fc» и «FcR» использованы для описания рецептора, который связывается с областью Fc антитела. Например, FcR может представлять собой человеческий FcR с нативной последовательностью. Как правило, FcR представляет собой FcR, который связывает антитело IgG (гамма-рецептор) и включает рецепторы подклассов FcγRI, FcγRII и FcγRIII, включая аллельные варианты и альтернативно сплайсированные формы этих рецепторов. Рецепторы FcγRII включают FcγRIIA («активирующий рецептор») и FcγRIIB («ингибирующий рецептор»), которые имеют сходные аминокислотные последовательности, которые различаются главным образом своими цитоплазматическими доменами. Иммуноглобулины других изотипов также могут связываться с определенными FcR (см., например, Janeway et al., *Immuno Biology: the immune system in health and disease*, (Elsevier Science Ltd., NY) (4th ed., 1999)). Активирующий рецептор FcγRIIA содержит мотив активации иммунорецептора на основе тирозина (ITAM) в своем цитоплазматическом домене. Ингибирующий рецептор FcγRIIB содержит мотив ингибирования иммунорецептора на основе тирозина (ITIM) в своем цитоплазматическом домене (обзор в Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997)). FcR рассмотрены в Ravetch и Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991); Capel et al., *Immunomethods* 4:25-34 (1994); и de Haas et al., *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995). Другие FcR, включая FcR, которые будут идентифицированы в будущем, охвачены в данном документе термином «FcR». Этот термин также включает неонатальный рецептор FcRn, который отвечает за перенос материнских IgG в плод (Guyer et al., *J. Immunol.* 117:587 (1976); и Kim et al., *J. Immunol.* 24:249 (1994)).

[0292] Модификации в домене CH2 могут влиять на связывание FcR с Fc. В данной области известен ряд модификаций аминокислот в области Fc, избирательно изменяющих

аффинность Fc к различным Fc-гамма-рецепторам. В некоторых аспектах Fc содержит одну или несколько модификаций, способствующих селективному связыванию Fc-гамма-рецепторов.

[0293] Типичные мутации, которые изменяют связывание FcR с Fc, перечислены ниже:

[0294] S298A/E333A/K334A, S298A/E333A/K334A/K326A (Lu Y, Vernes JM, Chiang N, et al. *J Immunol Methods*. 2011 Feb 28;365(1-2):132-41);

[0295] F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L, F243L/R292P/Y300L/L235V/P396L (Stavenhagen JB, Gorlatov S, Tuailon N, et al. *Cancer Res*. 2007 Sep 15;67(18):8882-90; Nordstrom JL, Gorlatov S, Zhang W, et al. *Breast Cancer Res*. 2011 Nov 30;13(6):R123);

[0296] F243L (Stewart R, Thom G, Levens M, et al. *Protein Eng Des Sel*. 2011 Sep;24(9):671-8.), S298A/E333A/K334A (Shields RL, Namenuk AK, Hong K, et al. *J Biol Chem*. 2001 Mar 2;276(9):6591-604);

[0297] S239D/I332E/A330L, S239D/I332E (Lazar GA, Dang W, Karki S, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Mar 14;103(11):4005-10);

[0298] S239D/S267E, S267E/L328F (Chu SY, Vostiar I, Karki S, et al. *Mol Immunol*. 2008 Sep;45(15):3926-33);

[0299] S239D/D265S/S298A/I332E, S239E/S298A/K326A/A327H, G237F/S298A/A330L/I332E, S239D/I332E/S298A, S239D/K326E/A330L/I332E/S298A, G236A/S239D/D270L/I332E, S239E/S267E/H268D, L234F/S267E/N325L, G237F/V266L/S267D и другие мутации, перечисленные в WO2011/120134 и WO2011/120135, включенных в настоящий документ посредством ссылки. В *Therapeutic Antibody Engineering* (by William R. Strohl and Lila M. Strohl, Woodhead Publishing series in Biomedicine No 11, ISBN 1 907568 37 9, Oct 2012) мутации перечислены на странице 283.

[0300] В некоторых вариантах осуществления антитела, описанное настоящим изобретением, включает модификации для улучшения его способности опосредовать эффекторную функцию. Такие модификации известны в данной области и включают афукозилирование или изменение аффинности Fc к активирующему рецептору, главным образом FCGR3a для ADCC и к C1q для CDC. В следующей таблице В суммированы различные конструкции, описанные в литературе по инженерии эффекторных функций.

[0301] В данной области хорошо известны способы получения антител с небольшим количеством фукозы или без нее в сайте гликозилирования Fc (Asn 297 нумерация EU) без изменения аминокислотной последовательности. Технология GlymaX® (ProBioGen AG) основана на внедрении гена фермента, который изменяет клеточный путь биосинтеза фукозы в клетки, используемые для получения антител. Это предотвращает добавление сахара «фукозы» к углеводной части N-связанного антитела клетками, продуцирующими антитела (von Horsten et al. (2010) *Glycobiology*. 2010 Dec; 20 (12):1607-18). Другой подход к получению антител с пониженными уровнями фукозилирования можно найти в патенте США 8409572, в котором описан отбор клеточных линий для выработки антител по их способности обеспечивать более низкие уровни фукозилирования. Антитела могут быть

полностью афукозилированными (то есть они не содержат обнаруживаемой фукозы), или они могут быть частично афукозилированными, что означает, что выделенное антитело содержит менее 95%, менее 85%, менее 75%, менее 65%, менее 55%, менее 45%, менее 35%, менее 25%, менее 15% или менее 5% количества фукозы, обычно обнаруживаемого для аналогичного антитела, продуцируемого экспрессионной системой млекопитающих.

[0302] Таким образом, в одном варианте осуществления антитело, описанное настоящем изобретении, может содержать димерный Fc, который содержит одну или несколько модификаций аминокислот, как указано в таблице В, которые придают улучшенную эффекторную функцию. В другом варианте осуществления антитело может быть афукозилировано для улучшения эффекторной функции.

Таблица В: Домены CH2 и разработка эффекторных функций

Таблица В		
Эталон	Мутации	Эффект
Lu, 2011, Ferrara 2011, Mizushima 2011	Афукозилированный	Повышенная ADCC
Lu, 2011	S298A/E333A/K334A	Повышенная ADCC
Lu, 2011	S298A/E333A/K334A/K326A	Повышенная ADCC
Stavenhagen, 2007	F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L	Повышенная ADCC
Nordstrom, 2011	F243L/R292P/Y300L/L235V/P396L	Повышенная ADCC
Stewart, 2011	F243L	Повышенная ADCC
Shields, 2001	S298A/E333A/K334A	Повышенная ADCC
Lazar, 2006	S239D/I332E/A330L	Повышенная ADCC
Lazar, 2006	S239D/I332E	Повышенная ADCC
Bowles, 2006	AME-D, мутации не уточнены	Повышенная ADCC
Heider, 2011	37.1, мутации не раскрыты	Повышенная ADCC
Moore, 2010	S267E/H268F/S324T	Повышенная CDC

[0303] В данной области известны модификации Fc, снижающие связывание FcγR и/или комплемента и/или эффекторную функцию. В недавних публикациях описаны стратегии, которые использовались для создания антител со сниженной или подавленной эффекторной активностью (см. Strohl, WR (2009), Curr Opin Biotech 20:685-691, and Strohl, WR and Strohl LM, “Antibody Fc engineering for optimal antibody performance” In Therapeutic Antibody Engineering, Cambridge: Woodhead Publishing (2012), pp 225-249). Эти стратегии включают снижение эффекторной функции за счет модификации гликозилирования, использования каркасов IgG2/IgG4 или введения мутаций в шарнирных или CH2-областях Fc. Например, в публикации патента США № 2011/0212087 (Strohl), публикации

международного патента № WO 2006/105338 (Xencor), публикации патента США № 2012/0225058 (Xencor), публикации патента США № 2012/0251531 (Genentech), и Strop et al ((2012) J. Mol. Biol. 420: 204-219) описаны конкретные модификации для уменьшения связывания FcγR или комплемента с Fc.

[0304] Конкретные, неограничивающие примеры известных модификаций аминокислот для уменьшения связывания FcγR или комплемента с Fc, включают модификации, которые указаны в следующей Таблице С:

Таблица С: Модификации для уменьшения связывания FcγR или комплемента с Fc

Таблица С	
Компания	Мутации
GSK	N297A
Ortho Biotech	L234A/L235A
Protein Design labs	IGG2 V234A/G237A
Wellcome Labs	IGG4 L235A/G237A/E318A
GSK	IGG4 S228P/L236E
Alexion	IGG2/IGG4combo
Merck	IGG2 H268Q/V309L/A330S/A331S
Bristol-Myers	C220S/C226S/C229S/P238S
Seattle Genetics	C226S/C229S/E3233P/L235V/L235A
Amgen	Экспрессия в E.coli, без гликозилирования
Medimune	L234F/L235E/P331S
Trubion	Мутант шарнирной области, возможно C226S/P230S

[0305] В данной области хорошо известны способы получения антител с небольшим количеством фукозы или без нее на сайте гликозилирования Fc (нумерация Asn 297 EU) без изменения аминокислотной последовательности. Технология GlymaxX® (ProBioGen AG) основана на внедрении гена фермента, который изменяет клеточный путь биосинтеза фукозы в клетки, используемые для получения антител. Это предотвращает добавление сахара «фукозы» к углеводной части N-связанного антитела клетками, продуцирующими антитела. (von Horsten et al. (2010) *Glycobiology*. 2010 Dec; 20 (12):1607-18.) Примеры клеточных линий, способных продуцировать дефукозилированные антитела, включают CHO-DG44 со покоящейся сверхэкспрессией бактериальной оксидоредуктазы GDP-6-дезоксид-Д-лихсо-4-гексилоредуктаза (RMD) (см. Henning von Horsten et al., *Glycobiol* 2010, 20:1607-1618) или клетки CHO Lec13, которые дефицитны в фукозилировании белка (см. Ripka et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, 1986, 249:533-545, патентная публикация США № 2003/0157108, WO 2004/056312 (каждая из которых полностью включена посредством

ссылки), и нокаутные клеточные линии, такие как клетки CHO с нокаутом FUT8 или гена альфа-1,6-фукозилтрансферазы (см. Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.*, 2004, 87: 614-622; Kanda et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 2006, 94:680-688; и WO 2003/085107; каждая из которых полностью включена посредством ссылки). Другой подход к получению антител с пониженным уровнем фукозилирования можно найти в патенте США 8409572, в котором описан отбор клеточных линий для выработки антител по их способности обеспечивать более низкие уровни фукозилирования антител.

[0306] Примеры клеточных линий, способных продуцировать дефукозилированные антитела, включают CHO-DG44 со покоящейся сверхэкспрессией бактериальной оксидоредуктазы GDP-6-дезоксид-ликсо-4-гексилоредуктазы (RMD) (см. Henning von Horsten et al., *Glycobiol* 2010, 20:1607-1618) или клетки CHO Lec13, которые дефицитны в фукозилировании белка (см. Ripka et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, 1986, 249:533-545; патентная публикация США № 2003/ 0157108; WO 2004/056312) каждая из которых полностью включена посредством ссылки) и клеточные линии с нокаутом, такие как клетки CHO с нокаутом гена альфа-1,6-фукозилтрансферазы или клетки CHO с нокаутом FUT8 (см. Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.*, 2004, 87: 614-622; Kanda et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 2006, 94:680-688 и WO 2003/085107) каждая из которых полностью включена посредством ссылки.

[0307] Антитела могут быть полностью афукозилированы (то есть они не содержат обнаруживаемой фукозы), или они могут быть частично афукозилированы, что означает, что выделенное антитело содержит менее 95%, менее 85%, менее 75%, менее 65%, менее 55%, менее 45%, менее 35%, менее 25%, менее 15% или менее 5% от количества фукозы, обычно обнаруживаемой для аналогичного антитела, продуцируемого системой экспрессии млекопитающих.

[0308] Некоторые аспекты относятся к антителу, предложенному в рамках настоящего изобретения, которое содержит домен IgG1 с пониженным содержанием фукозы в положении Asn 297 по сравнению с встречающимся в природе доменом IgG1. Известно, что такие домены Fc улучшают ADCC. См. Shields et al., *J. Biol. Chem.*, 2002, 277:26733-26740, полностью включенный посредством ссылки. В некоторых аспектах такие антитела не содержат фукозы в положении Asn 297. Количество фукозы можно определить с использованием любого подходящего способа, например, как описано в WO 2008/077546, полностью включенном посредством ссылки.

[0309] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит область Fc с одной или несколькими аминокислотными заменами, которые улучшают ADCC, например, заменой в одном или нескольких положениях 298, 333 и 334 области Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит область Fc с одной или несколькими аминокислотными заменами в положениях 239, 332 и 330, как описано в Lazar et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, 103:4005-4010, полностью включенном посредством ссылки.

[0310] Другие иллюстративные варианты гликозилирования, которые могут быть

включены в антитела согласно настоящему изобретению, описаны, например, в публикациях патентов США №№ 2003/0157108, 2004/0093621, 2003/0157108, 2003/0115614, 2002/0164328, 2004/0093621, 2004/0132140, 2004/0110704, 2004/0110282, 2004/0109865; публикациях международных патентов №№ 2000/61739, 2001/29246, 2003/085119, 2003/084570, 2005/035586, 2005/035778; 2005/053742, 2002/031140; Okazaki et al., *J. Mol. Biol.*, 2004, 336:1239-1249; and Yamane-Ohnuki et al., *Biotech. Bioeng.*, 2004, 87: 614-622; каждый из которых полностью включен посредством ссылки.

[0311] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит область Fc по меньшей мере с одним остатком галактозы в олигосахариде, прикрепленном к области Fc. Такие варианты антител могут иметь улучшенную функцию CDC. Примеры таких вариантов антител описаны, например, в WO 1997/30087; WO 1998/58964; и WO 1999/22764; каждый из которых полностью включен посредством ссылки.

[0312] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению содержит одно или несколько изменений, которые улучшают или уменьшают связывание C1q и/или CDC. См. патент США № 6194551; WO 99/51642; и Idusogie et al., *J. Immunol.*, 2000, 164:4178-4184; каждый из которых полностью включен посредством ссылки.

Связывание

[0313] Аффинность молекулы X к ее партнеру Y может быть представлена константой равновесия диссоциации (K_D). Кинетические компоненты, вносящие вклад в константу равновесия диссоциации, описаны более подробно ниже. Аффинность можно измерить обычными способами, известными в данной области, включая описанные в данном документе, такие как метод поверхностного плазмонного резонанса (SPR) (например, BIACORE®) или интерферометрия биослоя (например, FORTEBIO®).

[0314] Что касается связывания антитела с молекулой-мишенью, термины «связывать», «специфическое связывание», «специфически связывается», «специфичен для», «селективно связывается» и «является селективным для» конкретного антигена (например, полипептида-мишени) или эпитоп на конкретном антигене означают связывание, которое значительно отличается от неспецифического или неселективного взаимодействия (например, с молекулой, не являющейся мишенью). Специфическое связывание можно измерить, например, путем измерения связывания с молекулой-мишенью и сравнения его со связыванием с молекулой, не являющейся мишенью. Специфическое связывание также можно определить путем конкуренции с контрольной молекулой, которая имитирует эпитоп, распознаваемый на молекуле-мишени. В этом случае специфическое связывание показано, если связывание антитела с молекулой-мишенью конкурентно ингибируется контрольной молекулой. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела к фибрину для молекулы, не являющейся мишенью, составляет менее приблизительно 50% от аффинности к фибрину. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела к фибрину для молекулы, не являющейся мишенью,

составляет менее приблизительно 40% от аффинности к фибрину. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела к фибрину для молекулы, не являющейся мишенью, составляет менее приблизительно 30% от аффинности к фибрину. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела к фибрину для молекулы, не являющейся мишенью, составляет менее приблизительно 20% от аффинности к фибрину. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела к фибрину для молекулы, не являющейся мишенью, составляет менее приблизительно 10% от аффинности к фибрину. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела к фибрину для молекулы, не являющейся мишенью, составляет менее приблизительно 1% от аффинности к фибрину. В некоторых вариантах осуществления аффинность антитела к фибрину для молекулы, не являющейся мишенью, составляет менее приблизительно 0,1% от аффинности к фибрину.

[0315] При использовании в рамках настоящего изобретения в контексте двух или более антител термин «конкурирует» или «перекрестно конкурирует» означает, что два или более антитела конкурируют за связывание с антигеном (например, фибрином). В одном типовом анализе фибрином покрывают поверхность и вводят в контакт с первым антителом к фибрину, после чего добавляют второе антитело к фибрину. В другом типовом анализе первое антитело к фибрину наносят на поверхность и приводят в контакт с фибрином, а затем добавляется второе антитело к фибрину. Если присутствие первого антитела к фибрину снижает связывание второго антитела к фибрину в любом анализе, то антитела конкурируют друг с другом. Термин «конкурирует» также включает комбинации антител, в которых одно антитело снижает связывание другого антитела, но при этом конкуренция не наблюдается при добавлении антител в обратном порядке. Однако в некоторых вариантах осуществления первое и второе антитела ингибируют связывание друг друга независимо от порядка их добавления. В некоторых вариантах осуществления при измерении в анализе конкурентного связывания одно антитело снижает связывание другого антитела с его антигеном по меньшей мере на 25%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% и по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99%. Опытный специалист может выбрать концентрации антител, используемые в конкурентных анализах, на основе аффинности антител к фибрину и валентности антител. Анализы, описанные в этом определении, являются иллюстративными, и специалист в данной области может использовать любой подходящий анализ, чтобы определить, конкурируют ли антитела друг с другом. Подходящие анализы описаны, например, в работе Cox et al., “Immunoassay Methods,” in Assay Guidance Manual [Internet], Updated December 24, 2014 (ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92434/; accessed September 29, 2015); Silman et al., Cytometry, 2001, 44:30-37; and Finco et al., J. Pharm. Biomed. Anal., 2011, 54:351-358; каждый из которых полностью включен посредством ссылки.

[0316] Тестируемое антитело конкурирует с эталонным антителом, если избыток тестируемого антитела (например, по меньшей мере в 2, 5, 10, 20 или 100 раз) по данным анализа конкурентного связывания ингибирует или блокирует связывание эталонного

антитела, например, по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99%. Антитела, идентифицированные с помощью конкурентного анализа (конкурирующее антитело), включают антитела, связывающиеся с тем же эпитопом, что и эталонное антитело, и антитела, связывающиеся с соседним эпитопом, достаточно близким к эпитопу, связанному эталонным антителом, для возникновения стерических препятствий. Например, можно идентифицировать второе конкурирующее антитело, которое конкурирует за связывание с фибрином с первым антителом согласно настоящему изобретению. В некоторых случаях второе антитело может блокировать или ингибировать связывание первого антитела, например, по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99%, согласно измерению в анализе конкурентного связывания. В некоторых случаях второе антитело может вытеснять первое антитело более чем на 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99%.

[0317] В некоторых вариантах осуществления противофибриновые антитела по существу не связывают миелоидные клетки, присутствующие вне раковой ткани. В некоторых вариантах осуществления противофибриновые антитела по существу не связывают стимулирующие миелоидные клетки, присутствующие в раковой ткани.

[0318] В некоторых вариантах осуществления противофибриновые антитела связываются с остатками γ 377-395 домена γ C фибрина или фибриногена человека (SEQ ID NO: 31). Связывающий эпитоп содержит остатки в пределах числового диапазона (например, остатки 377-395 фибрина), начальный остаток каждого диапазона (например, остатки 377-394 фибрина человека) и конечный остаток каждого диапазона (например, остатки 378-395 фибрина человека) или любую их комбинацию.

[0319] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению связывает фибрин человека с K_D менее или равной приблизительно 0,001, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 1,95, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9 или 10×10^{-6} М, согласно измерениям с помощью анализа Biacore. В некоторых вариантах осуществления K_D антитела согласно настоящему изобретению составляет приблизительно 0,001-0,01, 0,01-0,1, 0,01-0,05, 0,05-0,1, 0,1-0,5, 0,5-1, 0,25-0,75, 0,25-0,5, 0,5-0,75 и 0,75-1, 0,75-2, 1,1-1,2, 1,2-1,3, 1,3-1,4, 1,4-1,5, 1,5-1,6, 1,6-1,7, 1,7-1,8, 1,8-1,9, 1,9-2, 1-2, 1-5, 2-7, 3-8, 3-5, 4-6, 5-7, 6-8, 7-9, 7-10 или $5-10 \times 10^{-6}$ М, согласно измерениям с помощью анализа Biacore. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению связывает фибрин человека с K_D менее или равной приблизительно 1×10^{-5} М, 1×10^{-6} М, 1×10^{-7} М, 1×10^{-8} М или 1×10^{-9} М.

[0320] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению связывает фибрин человека с K_D менее или равной приблизительно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4,5, 4, 3,5, 3, 2,5, 2, 1,98, 1,95, 1,9, 1,85, 1,8, 1,75, 1,7, 1,65, 1,6, 1,55, 1,50, 1,45, 1,4, 1,3, 1,2, 1,1, 1, 0,9, 0,85, 0,8, 0,75, 0,7, 0,65, 0,6, 0,55, 0,5, 0,45, 0,4, 0,35, 0,3, 0,25, 0,2, 0,15, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005, 0,001, 0,0005 или $0,0001 \times 10^{-5}$ М или менее, согласно измерениям с помощью анализа Biacore. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно

настоящему изобретению связывает фибрин человека с K_D между 5-3, 4-2, 3-1, 1,9-1,8, 1,8-1,7, 1,7-1,6, 1,6-1,5, 1,9-1,5, 1,5-1, 1-0,8, 1-0,5, 0,9-0,6, 0,7-0,4, 0,6-0,2, 0,5-0,3, 0,3-0,2, 0,2-0,1, 0,1-0,01, 0,01-0,001 или 0,001-0,0001 $\times 10^{-5}$ М согласно измерениям с помощью анализа Вiascore. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению связывает фибрина человека с K_D менее или равной приблизительно 10, 9,56, 9,5, 9,0, 8,88, 8,84, 8,5, 8, 7,5, 7,32, 7, 6,5, 6, 5,5, 5, 4,5, 4, 3,5, 3, 2,5, 2, 1,5 или 1×10^{-4} (1/с) или менее, согласно измерениям с помощью анализа Вiascore. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению связывает фибрин человека с K_D между 7-10, 7-8, 8-9, 9-10, 7-7,5, 7,5-8, 8,-8,5, 8,5-9, 9- 9,5 или $9,5-10 \times 10^{-4}$ (1/с) по данным анализа Вiascore. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению связывает фибрин человека с K_a , превышающим или равным приблизительно 4, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 4,5, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6, 7, 8, 9 или 10×10^5 (1/Мс) или более, согласно измерениям с помощью анализа Вiascore. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению связывает фибрина человека с K_a между 4-7, 4-4,5, 4,5-5, 5-5,5, 5,5-6, 6-6,5 или 6,5-7, 7-8, 8-9 или $9-10 \times 10^5$ (1/Мс), при измерении с помощью анализа Вiascore.

Функция

[0321] «Эффекторные функции» относятся к биологической активности, опосредованной областью Fc антитела, активность которой может варьироваться в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антител включают блокирование, агонизм или антагонизм лиганда рецептора, связывание C1q для активации комплементзависимой цитотоксичности (CDC), связывание рецептора Fc для активации антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и антителозависимого клеточного фагоцитоза (ADCP). В некоторых вариантах осуществления эффекторная функция антитела к фибрину согласно настоящему изобретению представляет собой антагонизм и блокирует связывание рецептора Мас-1 с фибрином.

Фармацевтические композиции

[0322] В настоящей заявке предложены композиции, содержащие антитела, включая фармацевтические композиции, содержащие любое одно или несколько антител согласно настоящему изобретению с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми вспомогательными средствами. В некоторых вариантах осуществления композиция является стерильной. Фармацевтические композиции обычно содержат эффективное количество антител.

[0323] Эти композиции могут содержать, в дополнение к одному или нескольким антителам согласно настоящему изобретению фармацевтически приемлемое вспомогательное средство, носитель, буфер, стабилизатор или другие материалы, хорошо известные специалистам в данной области. Такие материалы должны быть нетоксичными и не должны влиять на эффективность активного ингредиента. Точная природа носителя или другого материала может зависеть от пути введения, например, перорального, внутривенного, кожного или подкожного, назального, внутримышечного,

внутрибрюшинного пути.

[0324] Фармацевтические композиции для перорального введения могут находиться в форме таблеток, капсул, порошка или жидкости. Таблетка может содержать твердый носитель, такой как желатин, или адъювант. Жидкие фармацевтические композиции обычно содержат жидкий носитель, такой как вода, нефть, животные или растительные масла, минеральное масло или синтетическое масло. Могут быть включены физиологический солевой раствор, раствор декстрозы или другого сахара или гликоли, такие как этиленгликоль, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль.

[0325] Для внутривенной, кожной или подкожной инъекции или инъекции в место поражения активный ингредиент должен быть в форме парентерально приемлемого водного раствора, который является апирогенным и имеет подходящие рН, изотоничность и стабильность. Специалисты в данной области вполне способны приготовить подходящие растворы, используя, например, изотонические носители, такие как инъекция хлорида натрия, инъекция Рингера, инъекция Рингера с лактатом. При необходимости могут быть включены консерванты, стабилизаторы, буферы, антиоксиданты и/или другие добавки.

[0326] Антифибриновые антитела, которые должны быть введены индивидууму, предпочтительно вводят в «терапевтически эффективном количестве» или «профилактически эффективном количестве» (в зависимости от обстоятельств, хотя профилактика может рассматриваться как терапия), при этом достаточном, чтобы показать пользу индивидууму. Фактическое вводимое количество, а также скорость и продолжительность введения будут зависеть от природы и тяжести подлежащего лечению заболевания, связанного с агрегацией белков. Назначение лечения, например, решение о дозировке и т. д., находится в компетенции врачей общей практики и других врачей и обычно учитывает расстройство, подлежащее лечению, состояние конкретного пациента, место доставки, способ введения и другие факторы, известные практикам. Примеры упомянутых выше методов и протоколов можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A. (ed), 1980.

[0327] Композицию можно вводить отдельно или в сочетании с другими способами лечения, одновременно или последовательно, в зависимости от состояния, подлежащего лечению.

Способы

Способы получения

[0328] Антитела согласно настоящему изобретению можно получить с использованием рекомбинантных способов и композиций, например, как описано в патенте США № 4816567. В одном варианте осуществления представлена выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая описанное в данном документе антитело. Такая нуклеиновая кислота может кодировать аминокислотную последовательность, содержащую VL, и/или аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела (например, легкую и/или тяжелую цепи антитела), или аминокислотную последовательность, содержащую VHH однодоменного антитела. В дополнительном варианте осуществления предложен один или

несколько векторов (например, векторов экспрессии), содержащих такую нуклеиновую кислоту. В одном варианте осуществления нуклеиновая кислота представлена в мультицистронном векторе. В дополнительном варианте осуществления предложена клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. В одном из таких вариантов осуществления клетка-хозяин содержит (например, трансформирована): (1) вектором, содержащим нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую VH антигенсвязывающей полипептидной конструкции, или (2) первым вектором, содержащим нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VL антигенсвязывающей полипептидной конструкции, и вторым вектором, содержащим нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VH антигенсвязывающей полипептидной конструкции. В одном варианте осуществления клетка-хозяин является эукариотической, например, клеткой яичника китайского хомячка (СНО), или клеткой эмбриональной почки человека (НЕК), или лимфоидной клеткой (например, клеткой Y0, NS0, Sp20). В одном варианте осуществления предложен способ получения антител, включающий культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, как представлено выше, в условиях, подходящих для экспрессии антитела, и необязательно выделение антитела из клетки-хозяина (или культуральной среды клеток-хозяев).

[0329] Для рекомбинантного получения антител нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, например, как описано выше, выделяют и встраивают в один или несколько векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такую нуклеиновую кислоту можно легко выделить и секвенировать с использованием обычных методов (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, которые способны специфически связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела).

[0330] Когда гетеромультимер или его вариант рекомбинантно продуцируется клетками-хозяевами, белок в некоторых вариантах осуществления присутствует в количестве приблизительно 30%, приблизительно 25%, приблизительно 20%, приблизительно 15%, приблизительно 10%, приблизительно 5%, приблизительно 4%, приблизительно 3%, приблизительно 2% или приблизительно 1% или менее от сухой массы клеток. Когда гетеромультимер или его вариант рекомбинантно продуцируется клетками-хозяевами, белок в некоторых вариантах осуществления присутствует в культуральной среде в количествах приблизительно 5 г/л, приблизительно 4 г/л, приблизительно 3 г/л, приблизительно 2 г/л, приблизительно 1 г/л, приблизительно 750 мг/л, приблизительно 500 мг/л, приблизительно 250 мг/л, приблизительно 100 мг/л, приблизительно 50 мг/л, приблизительно 10 мг/л или приблизительно 1 мг/л или менее от сухой массы клеток. В некоторых вариантах осуществления «по существу очищенный» гетеромультимер, полученный способами, описанными в рамках настоящего изобретения, имеет уровень чистоты по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 35%, по

меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 45%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 55%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 65%, по меньшей мере приблизительно 70%, конкретно уровень чистоты по меньшей мере приблизительно 75%, 80%, 85%, а более конкретно уровень чистоты по меньшей мере приблизительно 90%, уровень чистоты по меньшей мере приблизительно 95%, уровень чистоты по меньшей мере приблизительно 99% или выше, как определено соответствующими способами, такими как анализ SDS/PAGE, RP-HPLC, SEC и капиллярный электрофорез.

[0331] Подходящие клетки-хозяева для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитела, включают прокариотические или эукариотические клетки, описанные в настоящем изобретении.

[0332] Рекомбинантные клетки-хозяева или клетки-хозяева представляют собой клетки, которые включают экзогенный полинуклеотид, независимо от способа, используемого для вставки, например, прямого поглощения, трансдукции, f-спаривания или других способов, известных в данной области для создания рекомбинантных клеток-хозяев. Экзогенный полинуклеотид можно сохранить в виде неинтегрированного вектора, например, плазмиды, или, альтернативно, можно интегрировать в геном хозяина. Клетки-хозяева могут включать CHO, производные CHO, NS0, Sp2O, CV-1, VERO-76, HeLa, HepG2, Per.C6 или ВНК.

[0333] Например, антитело можно продуцировать в бактериях, в частности, когда гликозилирование и эффекторная функция Fc не нужны. Информацию об экспрессии фрагментов антител и полипептидов в бактериях см., например, в патентах США №№ 5648237, 5789199 и 5840523. (См. также Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (В.К.С. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J., 2003), стр. 245-254, где описана экспрессия фрагментов антител в *E. coli*.) После экспрессии антитело можно выделить из пасты бактериальных клеток в виде растворимой фракции и подвергнуть дальнейшей очистке.

[0334] Помимо прокариотов, эукариотические микробы, такие как мицелиальные грибы или дрожжи, являются подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитела, включая штаммы грибов и дрожжей, пути гликозилирования которых были «гуманизированы», что приводит к выработке антитела с частично или полностью человеческим профилем гликозилирования. См. Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004), and Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006).

[0335] Подходящие клетки-хозяева для экспрессии гликозилированных антител также получают из многоклеточных организмов (беспозвоночных и позвоночных). Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Были идентифицированы многочисленные бакуловирусные штаммы, которые можно использовать в сочетании с клетками насекомых, в частности, для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*.

[0336] В качестве хозяев также можно использовать культуры растительных клеток. См., например, патенты США №№ 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 и 6417429

(описывающие технологию PLANTIBODIES™ для получения антител в трансгенных растениях).

[0337] В качестве хозяев также можно использовать клетки позвоночных. Например, могут подойти линии клеток млекопитающих, приспособленные к росту в суспензии. Другими примерами подходящих линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия CV1 почек обезьяны, трансформированная SV40 (COS-7); линия эмбриональных почек человека (клетки 293 или 293, которые описаны, например, в Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)); клетки почек детеныша хомячка (BHK); мышинные клетки Сертоли (клетки TM4, как описано, например, в Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)); клетки почек обезьяны (CV1); клетки почек африканской зеленой мартышки (VERO-76); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки почек собаки (MDCK; клетки печени буйволиной крысы (BRL 3A); клетки легких человека (W138); клетки печени человека (Hep G2); опухоль молочной железы мыши (MMT 060562); клетки TRI, которые описаны, например, в Mather et al., *Annals NY Acad. Sci.* 383:44-68 (1982), клетки MRC 5 и клетки FS4. Другие подходящие линии клеток-хозяев млекопитающих включают клетки яичника китайского хомячка (CHO), включая клетки DHFR-CHO (Urlaub et al, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 77:4216 (1980)); и клеточные линии миеломы, такие как Y0, NS0 и Sp2/0. Обзор некоторых линий клеток-хозяев млекопитающих, подходящих для выработки антител, см., например, Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), pp. 255-268 (2003).

[0338] В одном варианте осуществления антитела согласно настоящему изобретению продуцируют в покоящихся клетках млекопитающих способом, включающим: трансфекцию по меньшей мере одной покоящейся клетки млекопитающего: нуклеиновой кислотой, кодирующей антитело, в заранее определенном соотношении; и экспрессию нуклеиновой кислоты по меньшей мере в одной клетке млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления заданное соотношение нуклеиновых кислот определяют в экспериментах по временной трансфекции для определения относительного соотношения введенных нуклеиновых кислот, которое приводит к наибольшему процентному содержанию антител в экспрессированном продукте.

[0339] В некоторых вариантах осуществления в рамках настоящего изобретения описан способ получения антител в покоящихся клетках млекопитающих, где продукт экспрессии по меньшей мере одной покоящейся клетки млекопитающего содержит больший процент нужных гликозилированных антител по сравнению с мономерными полипептидами тяжелых или легких цепей или другими антителами.

[0340] В некоторых вариантах осуществления в рамках настоящего изобретения описан способ получения гликозилированных антител в покоящихся клетках млекопитающих, где указанный способ включает идентификацию и очистку нужных гликозилированных антител. В некоторых вариантах осуществления указанная идентификация осуществляется с помощью одного или обоих способов: жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии.

[0341] При необходимости антитела можно очистить или выделить после экспрессии. Белки можно выделить или очистить различными способами, известными специалистам в данной области. Стандартные способы очистки включают хроматографические способы, в том числе ионный обмен, гидрофобное взаимодействие, аффинность, калибровку или гель-фильтрацию, а также обращенно-фазовую очистку, проводимую при атмосферном давлении или при высоком давлении с использованием таких систем, как FPLC и HPLC. Способы очистки также включают способы электрофореза, иммунологии, осаждения, диализа и хроматофокусирования. Также подходят способы ультрафильтрации и диафильтрации в сочетании с концентрированием белка. Как хорошо известно в данной области, Fc и антитела связывают различные природные белки, и эти белки могут найти применение в настоящем изобретении для очистки антител. Например, бактериальные белки A и G связываются с областью Fc. Аналогичным образом бактериальный белок L связывается с областью Fab некоторых антител. Очистку часто можно осуществлять с помощью конкретного партнера по слиянию. Например, антитела можно очищать с использованием глутатионовой смолы при осуществлении слияния GST, аффинной хроматографии Ni⁺² при использовании метки His или иммобилизованных антител против меток Flag при использовании меток Flag. Общие рекомендации по подходящим способам очистки см., например, в *Protein Purification: Principles and Practice, 3rd Ed., Scopes, Springer-Verlag, NY, 1994*, полностью включенном посредством ссылки. Необходимая степень очистки будет варьироваться в зависимости от применения антител. В некоторых случаях очистка не требуется.

[0342] В некоторых вариантах осуществления антитела очищают с помощью анионообменной хроматографии, включая без ограничения хроматографию на колонках на Q-сефарозе, DEAE-сефарозе, poros HQ, poros DEAF, Toyopearl Q, Toyopearl QAE, Toyopearl DEAE, Resource/Source Q и DEAE, Fractogel Q и DEAE.

[0343] В конкретных вариантах осуществления описанные в данном документе белки очищают с помощью катионообменной хроматографии, включая без ограничения колонки на SP-сефарозе, CM-сефарозе, poros HS, poros CM, Toyopearl SP, Toyopearl CM, Resource/Source S и CM, Fractogel S и CM, а также их эквиваленты и аналоги.

[0344] Кроме того, описанные в данном документе антитела можно химически синтезировать с использованием способов, известных в данной области (например, см. Creighton, 1983, *Proteins: Structures and Molecular Principles*, WH Freeman & Co., NY и Hunkapiller et al., *Nature*, 310). :105-111 (1984)). Например, полипептид, соответствующий фрагменту полипептида, можно синтезировать с использованием пептидного синтезатора. Кроме того, при желании в полипептидную последовательность можно ввести путем замены или добавления неклассические аминокислоты или химические аналоги аминокислот. Неклассические аминокислоты включают без ограничения D-изомеры обычных аминокислот, 2,4-диаминомасляную кислоту, альфа-аминоизомасляную кислоту, 4-аминомасляную кислоту, Abu, 2-аминомасляную кислоту, g-Abu, e-Ahx, 6-аминогексановую кислоту, Aib, 2-аминоизомасляную кислоту, 3-аминопропионовую

кислоту, орнитин, норлейцин, норвалин, гидроксипролин, саркозин, цитруллин, гомоцитруллин, цистеиновую кислоту, т-бутилглицин, т-бутилаланин, фенилглицин, циклогексилаланин, аланин, фтораминокислоты, сконструированные аминокислоты, такие как метиламинокислоты, С-метиламинокислоты, N-метиламинокислоты и аналоги аминокислот в целом. Кроме того, аминокислота может быть D (правовращающей) или L (левовращающей).

Способы использования

[0345] В одном из аспектов настоящей заявки предложены способы контактирования фибрина с противофибриновым антителом, таким как человеческое или гуманизированное антитело, что приводит к ингибированию адгезии микроглии к домену γ C фибрина или фибриногена.

[0346] В одном из аспектов настоящей заявки предложены способы применения выделенных противофибриновых антител, описанных в настоящем изобретении, для лечения дегенеративного заболевания нервной системы. В некоторых аспектах в рамках настоящего изобретения описан способ лечения дегенеративного заболевания нервной системы, где способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества противофибриновых антител или фармацевтической композиции, содержащей противофибриновые антитела согласно настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления в настоящей заявке предложены способы лечения дегенеративного заболевания нервной системы, выбранного из группы, состоящей из: рассеянного склероза, травмы спинного мозга, инсульта и болезни Альцгеймера.

[0347] В некоторых аспектах в настоящем изобретении описаны способы лечения патологии, связанной со связыванием Mac-1 с фибрином или связыванием Mac-1 с фибриногеном, при этом способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества выделенных противофибриновых антител или фармацевтической композиции, содержащей выделенные противофибриновые антитела согласно настоящему изобретению.

[0348] В некоторых аспектах в настоящем изобретении описаны способы ингибирования активации микроглии, при этом способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества выделенных противофибриновых антител или фармацевтической композиции, содержащей выделенные антитела согласно настоящему изобретению.

[0349] В некоторых аспектах в рамках настоящего изобретения описан способ предотвращения дегенеративного заболевания нервной системы, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества выделенных противофибриновых антител или фармацевтической композиции, содержащей выделенные противофибриновые антитела согласно настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления в настоящей заявке предложены способы предотвращения дегенеративного заболевания нервной системы, выбранного из группы, состоящей из: рассеянного склероза, травмы спинного мозга, инсульта и болезни Альцгеймера.

[0350] В некоторых аспектах в настоящем изобретении описаны способы лечения или профилактики колита, включающие введение млекопитающему терапевтически эффективного количества выделенных противифибриновых антител или фармацевтической композиции, содержащей выделенные противифибриновые антитела согласно настоящему изобретению.

[0351] В некоторых аспектах в настоящем изобретении описаны способы лечения или профилактики воспалительного заболевания глаза, включающие введение млекопитающему терапевтически эффективного количества выделенных противифибриновых антител или фармацевтической композиции, содержащей выделенные противифибриновые антитела согласно настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления воспалительное состояние глаза представляет собой увеит.

Способы введения

[0352] В некоторых вариантах осуществления способы согласно настоящему изобретению подходят для лечения дегенеративного расстройства нервной системы у индивидуума. В одном из вариантов осуществления индивидуум представляет собой человека, а антитело представляет собой противифибриновое антитело согласно настоящему изобретению.

[0353] В некоторых вариантах осуществления антитело вводят внутривенно, внутримышечно, подкожно, местно, перорально, чрескожно, внутрибрюшинно, интраорбитально, интравитреально, путем имплантации, путем ингаляции, интратекально, внутрижелудочно или интраназально. Эффективное количество противифибриновых антител можно вводить для лечения рака. Соответствующая дозировка противифибриновых антител может быть определена на основе типа рака, подлежащего лечению, типа противифибриновых антител, тяжести и течения рака, клинического состояния человека, его клинического анамнеза и реакции на лечение, а также по усмотрению лечащего врача.

[0354] В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению вводят по меньшей мере с одним дополнительным терапевтическим средством. Любое подходящее дополнительное терапевтическое или иммунотерапевтическое средство можно вводить вместе с антителами, представленными в настоящем изобретении. Дополнительные терапевтические средства включают средства, которые применяют для лечения или предотвращения дегенеративного заболевания нервной системы, выбранного из группы, состоящей из: рассеянного склероза, травмы спинного мозга, инсульта и болезни Альцгеймера.

[0355] Дополнительное терапевтическое средство можно вводить любым подходящим способом. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению и дополнительное терапевтическое средство включены в одну и ту же фармацевтическую композицию. В некоторых вариантах осуществления антитело согласно настоящему изобретению и дополнительное терапевтическое средство включены в различные фармацевтические композиции.

[0356] В вариантах осуществления, в которых антитело согласно настоящему изобретению и дополнительное терапевтическое средство включены в различные фармацевтические композиции, введение антитела может происходить до, одновременно и/или после введения дополнительного терапевтического средства. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела согласно настоящему изобретению и дополнительного терапевтического средства происходит с интервалом приблизительно в один месяц. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение антитела согласно настоящему изобретению и дополнительного терапевтического средства происходит с интервалом приблизительно в одну неделю друг от друга. В некоторых вариантах осуществления введения антитела согласно настоящему изобретению и дополнительного терапевтического средства происходит с интервалом приблизительно в один день друг от друга. В некоторых вариантах осуществления введения антитела согласно настоящему изобретению и дополнительного терапевтического средства происходит с разницей приблизительно в двенадцать часов. В некоторых вариантах осуществления введения антитела согласно настоящему изобретению и дополнительного терапевтического средства происходит с интервалом приблизительно в один час.

Наборы и готовые изделия

[0357] В настоящей заявке предложены наборы, содержащие любую одну или несколько композиций антител, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления наборы дополнительно содержат компонент, выбранный из любого из вторичных антител, реагентов для иммуногистохимического анализа, фармацевтически приемлемого вспомогательного средства и инструкции по применению, а также любой их комбинации. В одном конкретном варианте осуществления набор содержит фармацевтическую композицию, содержащую любую одну или несколько композиций антител согласно настоящему изобретению с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми вспомогательными средствами.

[0358] В настоящей заявке также представлены изделия, содержащие любую из описанных в данном документе композиций или наборов антител. Примеры готового изделия включают флаконы (в том числе запечатанные флаконы).

Примеры

[0359] Ниже приведены примеры конкретных вариантов осуществления настоящего изобретения. Примеры предложены только для иллюстративных целей и никоим образом не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения. Были предприняты усилия для обеспечения точности используемых чисел (например, количеств, температур и т. д.), но, конечно, следует допускать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения.

[0360] В практике настоящего изобретения будут использоваться, если не указано иное, традиционные методы химии белков, биохимии, методы рекомбинантной ДНК и фармакологии, известные в данной области. Такие методы подробно описаны в литературе. См., например, T.E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* (W.H. Freeman and Company, 1993); A.L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., current addition);

Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Edition, 1989); *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg *Advanced Organic Chemistry* 3rd Ed. (Plenum Press) Vols A and B(1992).

Материалы и способы

[0361] Антигены биотинилировали с использованием набора EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation Kit от Pierce. Козьи F(ab')₂ против человеческого каппа-FITC (LC-FITC), ExtrAvidin-PE (EA-PE) и Стрептавидин-AF633 (SA-633) были получены от компаний Southern Biotech, Sigma и Molecular Probes соответственно. Козьи антитела против IgG-PE человека (Human-PE) были получены от компании Southern Biotech. Противомышинные APC были получены от компании Jackson ImmunoResearch.

Пример 1: Гуманизация противифибриновых антител

[0362] Процесс гуманизации модифицирует связывающие домены нечеловеческого антитела, увеличивая сходство со связывающими доменами человека. Обычно нечеловеческое антитело гуманизируют для снижения иммуногенности по отношению к человеку, сохраняя при этом специфичность и аффинность исходного нечеловеческого антитела. Как правило, гуманизированное антитело содержит один или несколько переменных доменов, в которых CDR (или их части) происходят из нечеловеческого антитела, а FR (или их части) происходят из последовательностей человеческого антитела. Гуманизированное антитело также будет содержать по меньшей мере часть константной области человека. В некоторых вариантах осуществления некоторые остатки FR в гуманизированном антителе заменены соответствующими остатками нечеловеческого антитела (например, антитела, из которого получены остатки CDR), например, для восстановления или улучшения профиля специфичности, аффинности, стабильности или способности развития антитела.

[0363] Обзор гуманизированных антител и способов их получения представлен, например, в Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008) и дополнительно описаны, например, в Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); патенты США №№ 5821337, 7527791, 6982321, и 7087409; Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005) (описание прививки области, определяющей специфичность (SDR); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (описание «перекладки»); Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005) (описание «перестановки FR»); и Osbourn et al., *Methods* 36:61-68 (2005) и Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (описание подхода «управляемого выбора» перестановки FR).

[0364] Области каркаса человека, которые можно использовать для гуманизации, включают без ограничения: каркасные области, выбранные с использованием способа «наилучшего соответствия» (см., например, Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); каркасные области, полученные из консенсусной последовательности человеческих антител конкретной подгруппы переменных областей легкой или тяжелой цепи (см., например, Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); и Presta et al. *J. Immunol.*,

151:2623 (1993)); зрелые (соматически мутированные) каркасные области человека или каркасные области зародышевой линии человека (см., например, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); и каркасные области, полученные в результате скрининга библиотек FR (см., например, Vaca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) и Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 ((1996)).

Гуманизация 5B8

[0365] Гуманизацию противофибриновых антител (5B8) проводили путем характеристики панели конструкций гуманизации, полученных на дрожжах. Вкратце, конструкции были созданы путем трансплантации последовательностей CDR мыши в последовательности каркаса человека, которые, как было предсказано *in silico*, были наиболее совместимыми с исходными каркасами мыши. Следующие комбинации были получены в дрожжах и охарактеризованы на предмет связывания с антигеном пептида P2 фибриногена человека: На основе 5B8, 27 антител, представляющих собой комбинации 9 гуманизованных VH и 3 гуманизованных Vκ.

Оптимизация антител

[0366] Оптимизацию гуманизованных антител осуществляли путем введения разнообразия в переменные области тяжелой цепи и легкой цепи, как описано ниже.

[0367] Создание библиотеки: олигонуклеотиды были заказаны из IDT, которые содержали CDRH1, CDRH2 или CDRH3, а также фланкирующую область по обе стороны от CDR. Положения аминокислот в CDR варьировали за счет разнообразия NNK, введенного в олигонуклеотиды CDR. Затем ДНК переменной области HC (тяжелой цепи) обрабатывали ДНКазой для создания фрагментов размером 50-200 п.н. Олигонуклеотиды CDRH1, CDRH2 и CDRH3 затем рекомбинировали с обработанной ДНКазой переменной областью HC посредством ПЦР с удлинением перекрытия для включения олигонуклеотидов разнообразия CDR в последовательность переменной области HC. Затем была создана библиотека путем трансформации этой диверсифицированной переменной последовательности HC и вектора экспрессии тяжелой цепи в дрожжи, уже содержащие плазмиду легкой цепи исходного элемента. Аналогичный процесс был выполнен для внесения разнообразия в CDRL1, CDRL2 и CDRL3. Олигонуклеотиды были заказаны из IDT с разнообразием CDRL1, CDRL2 и CDRL3 и включены в диверсифицированные переменные области легкой цепи (LC), как описано для библиотек CDRH1, CDRH2, CDRH3. Эти диверсифицированные переменные области LC и вектор экспрессии легкой цепи были трансформированы в дрожжи, уже содержащие плазмиду тяжелой цепи исходного элемента. Был создан дополнительный набор библиотек, ориентированный исключительно на разнообразие CDRH3. Разнообразие блуждающих синглетов было введено в CDRH3 посредством ПЦР с удлинением перекрытия между VH FR1-FR3 и олигонуклеотидом с разнообразием в CDRH3.

[0368] Отбор осуществляли с использованием сортировки FACS в течение трех циклов. Приблизительно 2×10^7 дрожжей осаждали, трижды промывали промывочным буфером и инкубировали при 30°C либо под аффинным давлением с использованием

антигена пептида P2 фибриногена человека, либо с реагентом для истощения полиспецифичности (PSR) для удаления из выбора неспецифических антител. Для этого отбора давление аффинности применялось путем предварительной инкубации антигена с исходным IgG и последующего применения этой предварительно комплексной смеси к дрожжевой библиотеке в течение периода времени, который позволял бы достичь равновесия отбора. Для истощения PSR библиотеки инкубировали с разведением 1:10 биотинилированного реагента PSR, как описано ранее (см. Y. Xu et al, PEDS 26.10, 663-70 (2013).) Затем дрожжи дважды промывали промывочным буфером и окрашивали LC-FITC (разбавленным 1:100) и вторичными реагентами SA-633 (разбавленным 1:500), EAPE (разбавленным 1:50) или против мышинным APC (разбавленным 1:500) в течение 15 мин при 4°C. После двукратной промывки промывочным буфером осадки клеток ресуспендировали в 0,3 мл промывочного буфера и переносили в сортировочные пробирки с сетчатыми крышками. Сортировку проводили с использованием сортировщика FACS ARIA (BD Biosciences) и определяли сортировочные ворота для отбора антител с нужными характеристиками. Завершено четыре отборочных цикла. После последнего цикла сортировки дрожжи высевали на чашки и отбирали отдельные колонии для характеристики. На фиг. 1 показаны результаты первых трех циклов отбора единой библиотеки антител из одного исходного антитела и повышенная аффинность антител к гамма-пептиду P2 фибрина после каждого цикла созревания.

Получение и очистка антител

[0369] Дрожжевые клоны выращивали до насыщения, а затем индуцировали в течение 48 часов при 30°C и встряхивании. После индуцирования дрожжевые клетки осаждали, и супернатанты собирали для очистки. IgG очищали на колонке с белком A и элюировали уксусной кислотой, pH 3,5. фрагменты Fab получали путем расщепления папаином и очищали с помощью CaptureSelect (Life Technologies).

Пример 2: Характеристика и созревание аффинности клонов гуманизированных антител

[0370] Ферментно-связанный иммуносорбентный анализ (ELISA) проводили с выбранными клонами гуманизированных антител и пептидом P2 фибрина (фиг. 2A), фибриногеном (фиг. 2B) и фибрином (фиг. 2C). A= клон 60143; B= клон 61278; C= клон 61278 (дубликат); D= исходное антитело.

[0371] Эти результаты подтверждают, что клоны гуманизированных антител с созревшей аффинностью связываются с пептидом P2 фибрина и фибрином с улучшенной аффинностью по сравнению с исходным гуманизированным антителом.

[0372] Чтобы оценить, влияют ли клоны антител с созревшей аффинностью на полимеризацию или лизис фибрина, проводили анализы лизиса сгустка, демонстрирующие время лизиса сгустка образцов в присутствии вариантов гуманизированных антител (фиг. 3). A= клон 56666; B= клон 56657; C= клон 60143; D=клон 60181; E=клон 60175; F=клон 60163; G=клон 60173; H=клон 60184; I=клон 60141; J=клон 60179; K=клон 60140; L=клон 60183. Анализ лизиса сгустка проводили путем приготовления двух смесей: смесь 1,

содержащую 133 нМ антитела, 2 мкМ фибриногена, готовили в 96-луночном планшете, центрифугировали при 55 об/мин и инкубировали в течение 0,5 часа при 37°C, и смесь 2, содержащую 20 нМ плазминогена, 0,1 ед. тромбина, 4 мМ CaCl₂ и 1 нМ tPA, готовили и переносили на планшет. Реакции лизиса сгустка начинали сразу после переноса смеси 2 в лунку. Ход реакции измеряли при 350 нм. Каждый планшет содержал 4 контроля: контрольный буфер без смеси тромбин-tPA-CaCl₂, контрольный буфер, 100 мкМ GPRP (ингибитор полимеризации) и 10 мкМ ЕАСА (ингибитор лизиса).

[0373] Время лизиса сгустка всех тестируемых клонов антител существенно не менялось по сравнению с исходным гуманизированным антителом или контрольным изотипическим антителом (фиг. 3).

[0374] Эти результаты подтверждают, что клоны гуманизированных антител с созревшей аффинностью не влияют на полимеризацию фибрина или лизис фибрина.

Измерения ForteBio K_D

[0375] Измерения аффинности ForteBio проводили на Octet RED384, как правило, как описано ранее (см. Estep et al, High throughput solution-based measurement of antibody-antigen affinity and epitope binning. *Mabs* 5(2), 270-278 (2013)). Вкратце, измерения аффинности ForteBio проводились путем загрузки IgG в режиме онлайн на датчики АНС. Датчики уравнивали в автономном режиме в аналитическом буфере в течение 30 минут, а затем контролировали в режиме онлайн в течение 60 секунд для установления исходного уровня. Сенсоры с загруженными IgG подвергали воздействию 100 нМ антигена в течение 3 минут, а затем переносили в буфер для анализа на 3 минуты для измерения скорости диссоциации. Для оценки моновалентной аффинности вместо IgG использовали Fab. Для этой оценки небиотинилированный слитый антиген Fc загружали в режиме онлайн на датчики АНС или АМС. Датчики уравнивали в автономном режиме в аналитическом буфере в течение 30 минут, а затем контролировали в режиме онлайн в течение 60 секунд для установления исходного уровня. Сенсоры с загруженным антигеном подвергали воздействию 100 нМ Fab в течение 3 минут, а затем переносили в буфер для анализа на 3 минуты для измерения скорости диссоциации. Всю кинетику анализировали с использованием модели связывания 1:1.

[0376] На фиг. 4 показаны результаты измерений ForteBio K_D либо с биотинилированным на N-конце пептидом P2 фибрина, конъюгированным с IgG в растворе (100 нМ), либо с FAB (моновалентным) в растворе (100 нМ). На фиг. 5 показаны результаты связывания октета Fab в растворе (100 нМ) с биотинилированным на N-конце пептидом P2 фибрина.

[0377] Эти результаты показывают, что клоны гуманизированных антител с созревшей аффинностью обладают улучшенной аффинностью связывания с гамма-пептидом P2 фибрина по сравнению с исходными гуманизированными антителами.

Анализ связывания PSR

[0378] Анализ PSR провели как описано ранее (см. Xu Y, et al. (2013) Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: A FACS-based,

high-throughput selection and analytical tool. *Protein Eng Des Sel* 26(10):663-670). Вкратце, растворимые мембранные белки были получены из клеток CHO. Обогащенную мембранную фракцию биотинилировали с использованием NHS-LCBiotin (Pierce, Thermo Fisher). Этот реагент полиспецифичности инкубировали с презентующими IgG дрожжами с последующей промывкой. Затем к смеси добавляли смесь вторичного мечения (Экстравидин-R-PE, античеловеческий LC-FITC и йодид пропидия). Образцы анализировали на анализаторе FACSCanto II (BD Biosciences) с использованием инжектора образцов HTS. Данные проточной цитометрии анализировали на среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) в канале R-PE для оценки неспецифического связывания. Значения MFI были нормализованы от 0 до 1 на основе трех эталонных антител, демонстрирующих низкие, средние и высокие значения PSR MFI.

Динамическая сканирующая флуориметрия

[0379] 10 мкл 20x Sypro Orange добавляли к 20 мкл раствора mAb или Fab с концентрацией 0,2-1 мг/мл. Прибор RT-PCR (BioRad CFX96 RT PCR) использовали для повышения температуры планшета с образцами от 40 до 95 C с шагом 0,5 C, с 2-минутным уравниванием при каждой температуре. Отрицательное значение первой производной необработанных данных использовали для извлечения T_m .

AC-SINS

[0380] Анализ AC-SINS проводили, как описано ранее (см. Liu Y, et al. (2014) High-throughput screening for developability during early-stage antibody discovery using self-interaction nanoparticle spectroscopy. *MAbs* 6(2):483-492). Вкратце, наночастицы золота (Ted Pella Inc.) покрывали на 80% захватывающими Fc против человеческого козьего IgG (Jackson ImmunoResearch) и на 20% поликлональными козьими неспецифическими антителами (Jackson ImmunoResearch). Затем интересующие антитела инкубировали с частицами в течение 2 часов и измеряли сдвиг длины волны с использованием Molecular Devices SpectraMax M2 с программным обеспечением SoftMax Pro6. Самодействующие клоны демонстрируют больший сдвиг длины волны в сторону от образца PBS.

НІС (хроматография гидрофобного взаимодействия)

[0381] Методика этого анализа была описана ранее (см. Estep P, et al. (2015) An alternative assay to hydrophobic interaction chromatography for high-throughput characterization of monoclonal antibodies. *MAbs* 7(3):553-561). Вкратце, перед анализом образцы IgG 5 мкг (1 мг/мл) добавляли раствор подвижной фазы А (1,8 М сульфата аммония и 0,1 М фосфата натрия при pH 6,5) для достижения конечной концентрации сульфата аммония приблизительно 1 М. Колонку Sepax Proteomix НІС butyl-NP5 использовали с линейным градиентом растворов подвижной фазы А и подвижной фазы В (0,1 М фосфат натрия, pH 6,5) в течение 20 минут при скорости потока 1 мл/мин с мониторингом УФ-поглощения при 280 нм.

Пример 3: Терапевтическое лечение индуцированного фибриногеном энцефаломиелимита (FIE)

Затем оценивали способность гуманизированных противифибриновых антител

терапевтически ингибировать активацию микроглии и инфильтрацию макрофагов (фиг. 6) на мышинной модели индуцированного фибриногеном энцефаломиелита (FIE). Для индукции FIE мышей анестезировали авертином и помещали в стереотаксический аппарат. Свободный от плазминогена фибриноген растворяли в дистиллированной воде, не содержащей эндотоксинов, и разбавляли до 5 мг/мл ACSF (искусственная спинномозговая жидкость). Фибриноген (1 мкл 5 мг/мл) вводили со скоростью 0,3 мкл/мин с помощью 10-мкл шприца Гамильтона, прикрепленного к игле калибра 33, в головной мозг по координатам: переднезадний, -1,0 мм; медиолатеральный -0,7 мм; дорсовентральный -1,325 мм от брегмы, по Паксиносу и Уотсону.

[0383] Для профилактических интрацеребровентрикулярных (icv) инъекций 10 мкг антител вводили (со скоростью 0,3 мкл/мин) с помощью 10-мкл шприца, прикрепленного к игле калибра 33, в желудочек головного мозга (переднезадний, -2,0 мм; медиолатеральный 0 мм, дорсовентральный -2,0 мм) за 30 мин до инъекции фибриногена. Для профилактических внутривенных (в/в) инъекций антитела вводили ретроорбитально с помощью инсулинового шприца объемом 0,3 мл (29 г) за 1 час до инъекции фибриногена.

[0384] Стереотаксический фибриноген инъецировали в мозолистое тело, чтобы вызвать энцефаломиелит. Затем в общей сложности 78 мышам, разделенным на 13 групп: n=6 мышей в группе, внутривенно инъецировали гуманизированные противофибриновые антитела в дозе 10 мг/кг или 30 мг/кг. Забор и подготовку ткани головного мозга проводили через три дня после инъекции. Исключение из выборки: 5 мышей; найдены мертвыми на 1 день после операции (С 10 мг/кг, n =1) и на 2 день после операции (В 10 мг/кг, n =1; D 10 мг/кг, n=1). Неправильное место инъекции (В 10 мг/кг, n=1; D 10 мг/кг, n=1). Слепая и количественная оценка: все эксперименты FIE, сбор изображений и количественную оценку выполняли вслепую. Иммуногистохимию (ИНС) и количественную оценку проводили следующим образом: для ИНС и количественной оценки были включены 73 образца мышей. Корональные срезы (30 мкм) были приготовлены на криостате. Ткани окрашивали Iba-1 (маркер микроглии, с разведением 1:750) и Мас-2 (маркер инфильтрации макрофагов, с разведением 1:750). Затем рассчитывали иммунореактивность Iba-1 (область Iba-1+) и Мас-2 (область Мас-2+). Уменьшение количества как микроглии, так и макрофагов было обнаружено в тканях мышей, обработанных клонами гуманизированных противофибриновых антител с созревшей аффинностью в дозе 10 мг/кг или 30 мг/кг.

[0385] Эти результаты показывают, что варианты гуманизированных антител согласно настоящему изобретению могут терапевтически снижать инфильтрацию микроглии и макрофагов у мышей с FIE.

Пример 4: Профилактическое лечение рецидивирующего-ремиттирующего экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (EAE)

[0386] Оценивали способность гуманизированных противофибриновых антител профилактически лечить рецидивирующий-ремиттирующий EAE, индуцированный эпитопом аминокислот 139-151 протеолипидного белка (PLP) («PLP139-151 EAE»). EAE индуцировали у самок мышей SJL/J в возрасте 8-9 недель путем подкожной иммунизации

15 мкг PLP139-151 в полном адьюванте Фрейнда, дополненном 400 мкг инактивированной нагреванием *Mycobacterium Tuberculosis* H37Ra (день 0). Через 2 дня после иммунизации мышам инъецировали 5 нг коклюшного токсина внутривентрально. Антитела вводили внутривентрально в дозе 0,2, 1 или 5 мг/кг профилактически два раза в неделю, начиная с 0 дня. В качестве положительного контроля ежедневно внутривентрально вводили дексаметазон (0,5 мг/кг). Схема эксперимента: 6 групп: n=10 мышей в группе, всего 60 мышей. Режим введения препарата: дексаметазон (5 мг/кг ежедневно), гуманизированные противифибриновые антитела (A, B, C, D_5 мг/кг каждые 3 дня). Оценки инвалидности EAE контролировали ежедневно до конца исследования. Исследование было прекращено через 3 дня после пика EAE приблизительно на 14-16 день исследования, и спинной мозг собирали для гистопатологического анализа.

[0387] Исключение из выборки: 3 мыши; обнаружены мертвыми на 12 день (антитело B, n=1), на 15 день (антитело C, n=1) или на 16 день (антитело A, n=1). Слепое исследование и количественная оценка: Все эксперименты с EAE (обработка антителами и клиническая оценка) проводили вслепую. Для обработки тканей было подготовлено 57 образцов спинного мозга.

[0388] Клиническую оценку PLP EAE проводили у мышей, которым профилактически вводили антитела (5 мг/кг внутривентрально каждые 3 дня) (фиг. 7). Клиническая оценка мышей, которым вводили гуманизированные противифибриновые антитела, была снижена по сравнению с контрольными мышами, которым вводили только PBS или IgG1. Также оценивали время до начала заболевания (фиг. 8). Не было мышей с параличом, которым вводили гуманизированные противифибриновые антитела, по сравнению с контрольными мышами, которым вводили только PBS, IgG1 или дексаметазон, среди которых было от 25% до более 50% мышей с параличом (фиг. 8). На фиг. 9 показаны клинические оценки мышей, которым вводили профилактическую инъекцию только PBS, дексаметазона, клон антитела 6043 (слева) или контрольных антител человека IgG1 (справа). На фиг. 10 показана доля парализованных мышей (полный паралич - слева) или (частичный паралич задних конечностей - справа), которым профилактически вводили только PBS, дексаметазон (декса), клон 6043 антител (в указанных концентрациях; 5=5 мг/кг, 1=1 мг/кг и 0,2=0,2 мг/кг) или контрольные IgG1 антитела человека (5 мг/кг).

[0389] Эти результаты показывают, что гуманизированные противифибриновые антитела эффективны для профилактического лечения энцефаломиелита.

Пример 5: Гуманизированные противифибриновые антитела снижают индуцированную фибрином экспрессию IL-12 в клетках BMDM.

[0390] Оценивали способность гуманизированных противифибриновых антител с созревшей аффинностью изменять экспрессию гена интерлейкина (IL)-12b в клеточных линиях макрофагов, полученных из костного мозга (BMDM) (фиг. 11-13). Планшеты для клеточных культур с лунками, покрытыми фибрином, предварительно инкубировали с гуманизированными противифибриновыми антителами в течение 2 часов перед высеванием клеток BMDM. Клетки инкубировали с гуманизированными

противофибриновыми антителами или изотипическим контролем, фибриногеном, тромбином и CaCl_2 в течение шести часов, а затем клетки собирали и выделяли РНК для анализа экспрессии генов (фиг. 11). В клетках, инкубированных с контрольным изотипом 50 мкг/мл, наблюдалось более чем 30-кратное увеличение экспрессии IL-12b, тогда как в клетках, инкубированных с клонами антител 60143 и 61278 в концентрации 50 мкг/мл, наблюдалось увеличение экспрессии IL-12b в 15-20 раз (фиг. 10). В другом эксперименте клетки, инкубированные с изотипическим контролем 10 мкг/мл, демонстрировали увеличение экспрессии IL-12b приблизительно в 55 раз, тогда как клетки, инкубированные с клонами антител 60143 и 61278 в концентрации 10 мкг/мл, демонстрировали увеличение экспрессии IL-12b приблизительно в 20-45 раз (фиг. 12). Кратное изменение экспрессии IL-12b также уменьшалось по мере увеличения концентрации клонов антител 60143 и 61278 (фиг. 13).

Эти результаты подтверждают, что индуцированная фибрином экспрессия IL-12b снижается при блокаде противофибриновыми антителами в макрофагах, происходящих из костного мозга.

Пример 6: Лечение нейродегенеративного заболевания

[0392] Описанные в данном документе варианты очищенных гуманизированных антител включают в фармацевтическую композицию для введения пациентам для лечения нейродегенеративного заболевания (например, MS или болезни Альцгеймера). Фармацевтическую композицию, содержащую вариант гуманизированного антитела, описанный в настоящем изобретении, вводят в дозе, достаточной для эффективного уменьшения симптомов нейродегенеративного заболевания. Фармацевтическая композиция хорошо переносится и не вызывает у пациента значительных вредных побочных эффектов.

Пример 7: Вариант гуманизированного антитела для лечения колита

[0393] Варианты гуманизированных антител исследовали на способность лечить колит на мышинной модели колита (фиг. 14). Чтобы начать лечение колита, вызванного декстран-сульфатом натрия (DSS), самок мышей C57BL/6 в возрасте 8-10 недель акклиматизировали в виварии в течение как минимум 4 дней, взвешивали и случайным образом распределяли по группам лечения в зависимости от массы тела. Было проведено 2 типа исследований: острый (7 дней) и хронический (28 дней).

[0394] Исследование острого DSS проводили путем добавления 2,5% DSS в питьевую воду в течение 7 дней. Антитела вводили внутривентриально каждые 2 дня (Q2D) в дозе 10 и 30 мг/кг. Мышей умерщвляли на 7 день под изофлурановой анестезией, пускали кровь с последующей цервикальной дислокацией. Толстую кишку удаляли и анализировали на гистопатологию.

[0395] Исследование хронического DSS проводили путем добавления 2,0% DSS в питьевую воду в течение 1 недели с последующей заменой на 1 неделю обычной питьевой воды, затем еще на неделю с 2% DSS и заканчивая еще одной неделей обычной питьевой воды. Описанные в данном документе варианты гуманизированного антитела вводили

внутривенно профилактически, начиная с 0 дня, два раза в неделю в дозах 30 и 5 мг/кг. Мышей умерщвляли через 28 дней под изофлурановой анестезией, пускали кровь с последующей цервикальной дислокацией. Толстую кишку удаляли и анализировали на гистопатологию.

[0396] Эти результаты подтверждают, что варианты гуманизованного антитела согласно настоящему изобретению эффективны для лечения колита.

Пример 8: Фармакокинетика и биораспределение *ex vivo* выбранных противифибриновых антител.

[0397] Материалы и способы

[0398] Протокол мечения [¹²⁵I]SIB-60143 и [¹²⁵I]SIB-61278

[0399] Было проведено четыре получения ¹²⁵I-SIB, используя в каждом случае 10 мкл (35 МБк I-125). Меньшие партии метили для повышения общей эффективности и воспроизводимости. Две пары двух реакций объединяли и очищали с помощью HPLC. Выход сухого ¹²⁵I-SIB в каждом случае составлял 25 МБк.

[0400] pH исходного раствора 60143 и 61278 (0,5 мл каждого) снижали с 8,5 до 8,0 с использованием 2 М HEPES. Каждый из растворов с отрегулированным pH затем добавляли к высушенному ¹²⁵I-SIB и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Эффективность мечения измеряли с помощью iTLC, и она составила 59% и 77% для 60143 и 61278, соответственно. Реакционные смеси затем очищали на колонках NAP-5, элюируя PBS.

[0401] Фракции 4-8 объединяли, получая 12,6 МБк [¹²⁵I]SIB-60143 и 18,0 МБк [¹²⁵I]SIB-61278 каждая в 1,25 мл. Радиохимическую чистоту измеряли с помощью iTLC и SEC-HPLC.

[0402] Меченные I-125 белки разводили в фосфатно-солевом буфере (PBS) до достижения концентрации 1,33 мг/мл для исходного материала с низкой дозой и 3,75 мг/мл для исходного сырья с высокой дозой.

[0403] Модель животного

[0404] Семьдесят две самки мышей C57BL/6 были получены от Charles River UK.

[0405] Пилотное исследование безопасности высоких доз *in vivo*

[0406] Двум самкам мышей C57BL/6 внутривенно вводили 30 мг/кг 60143, а двум - 30 мг/кг 61278. За животными осуществляли постоянный мониторинг в течение первого (0-1 часа после инъекции) и четвертого часа после инъекции (через 4-5 ч после инъекции). Мышей ежедневно проверяли на предмет каких-либо побочных эффектов через 1 и 2 дня после инъекции, после чего их подвергали эвтаназии.

[0407] Исследование *in vivo*

[0408] Для анализа фармакокинетики шестидесяти восьми самкам мышей C57BL/6 (19,0±1,3 г) вводили 10 или 30 мг/кг [¹²⁵I]SIB-60143 или [¹²⁵I]SIB-61278 и умерщвляли в разное время (5 минут, 30 минут, 1 час, 4 часа, 1 день, 3 дня, 7 дней и 14 дней; n=2 на каждый момент времени). Кровь, плазму, безбелковую плазму и активность белка подсчитывали с помощью гамма-счетчика. Более подробная информация о дизайне исследования

представлена в таблице 1 ниже.

[0409] Тридцать два из этих животных ($18,6 \pm 1,3$ г) также были включены в исследование биораспределения. Всем мышам вводили 10 или 30 мг/кг [^{125}I]SIB-60143 или [^{125}I]SIB-61278 и умерщвляли в различные моменты времени (1 день, 3 дня, 7 дней и 14 дней; $n=2$ за один раз). Более подробная информация о дизайне исследования представлена в таблице 2 ниже.

[0410] Таблица 1: Краткое описание дизайна исследования для фармакокинетического анализа

Время	Образцы
5 мин	Кровь, плазма, плазма без белка, белок
30 мин	Кровь, плазма, плазма без белка, белок
1 час	Кровь, плазма, плазма без белка, белок
4 часа	Кровь, плазма, плазма без белка, белок
1 день	Кровь, плазма, плазма без белка, белок
3 дня	Кровь, плазма, плазма без белка, белок
7 дней	Кровь, плазма, плазма без белка, белок
14 дней	Кровь, плазма, плазма без белка, белок

[0411] Таблица 2: Краткое описание дизайна исследования биораспределения

Группа & Путь	№ животных	Метка	Массовая доза (мг/кг)	Доза радиоактивности (МБк/животное)	Время подсчета гамма-излучения
1 IV	16	[^{125}I]SIB-60143	$9,8 \pm 0,5$	$0,27 \pm 0,02$	24 часа
2 IV	16	[^{125}I]SIB-61278	$9,8 \pm 0,5$	$0,36 \pm 0,02$	72 часа
3 IV	16	[^{125}I]SIB-60143	$29,6 \pm 1,9$	$0,27 \pm 0,02$	168 часов
4 IV	17	[^{125}I]SIB-61278	$29,3 \pm 3,6$	$0,37 \pm 0,05$	336 часов

[0412] Всем животным из группы 1 и группы 2 в 1 день вводили инъекцию в бодрствующем состоянии. Животным для изучения биораспределения (1 день, 3 дня, 7 дней и 14 дней) из групп 3 и 4 также вводили инъекции в бодрствующем состоянии в 1 день. Животным только для изучения РК (5 минут, 30 минут, 1 час, 4 часа) из групп 3 и 4 вводили инъекции в бодрствовании во 2 день. В разные дни инъекции использовали один и тот же состав исследуемого препарата.

[0413] Введение дозы

[0414] Каждое животное взвешивали в день введения дозы. Вес животных колебался от 16,4 до 22,5 г. Разовые внутривенные (IV) дозы вводили с помощью шприца емкостью 0,5 мл для обеспечения соответствующей дозировки 10 мг/кг для групп 1 и 2 и 30 мг/кг для

групп 3 и 4. Дозирующий шприц взвешивали до и после инъекции, чтобы определить количество, вводимое каждому субъекту.

[0415] Приготовление образцов *ex vivo*

[0416] Животных умерщвляли путем пункции сердца с последующим обескровливанием перед резекцией органа. Для подсчета гамма-излучения собирали следующие органы: мозг, сердце, печень, почки, мышцы, хвост, желудок, толстый кишечник, тонкий кишечник, слепую кишку и селезенку.

[0417] Анализ

[0418] Результаты представлены в единицах процента введенной дозы (%ID) и процента введенной дозы на грамм (%ID/г). Определение этих единиц можно найти в уравнениях ниже:

[0419] %ID для каждой анализируемой области из данных подсчета гамма-излучения *ex vivo* может быть определен, как указано в уравнении 1:

$$\% \text{ ID} = \text{поглощение} / \text{инъекционная доза} * 100\%$$

[0420] Где поглощение=радиоактивность (МБк) в конкретном образце для подсчета гамма-излучения, с поправкой на распад во время инъекции. Инъекционная доза=радиоактивность (МБк), введенная субъекту.

[0421] %ID/г для каждой анализируемой области из данных подсчета гамма-излучения *ex vivo* можно определить, как указано в уравнении 2:

$$\% \text{ ID} / \text{г} = (\text{поглощение} / \text{инъекционная доза} * 100\%) / \text{масса ROI}$$

[0422] Где Поглощение=Радиоактивность (МБк) в конкретном образце для подсчета гамма-излучения, с поправкой на распад во время инъекции. Инъекционная доза=радиоактивность (МБк), введенная субъекту. Масса=масса образца ткани, подсчитанной по гамма-излучению, в г.

[0423] Значения концентрации в единицах мкг/мл могут быть определены для данных подсчета гамма-излучения *ex vivo* согласно уравнению 3:

$$\text{мкг/мл} = (\% \text{ ID} / \text{г}) * (\text{инъекционная доза (мкг)} / 100\% \text{ ID}) / (1 \text{ мл} / 1 \text{ г})$$

[0424] Где инъекционная доза=масса антител (мкг), введенных субъекту. Предположение: плотность ткани составляет 1 г/мл.

[0425] Анализ подсчета гамма-излучения для биораспределения

[0426] Активность каждой собранной ткани измеряли в единицах импульсов в минуту (CPM). Тройные аликвоты радиофармпрепарата также анализировали в гамма-счетчике для расчета коэффициента для пересчета количества в массу введенного материала (г/CPM). Значения были скорректированы с учетом фоновой радиации и преобразованы в процент введенной дозы (%ID) и процент введенной дозы на грамм (%ID/г).

[0427] Анализ подсчета гамма-излучения для РК-исследования

[0428] Активность каждой собранной ткани измеряли в единицах импульсов в минуту (CPM). Тройные аликвоты радиофармпрепарата также анализировали в гамма-счетчике для расчета коэффициента для пересчета количества в массу введенного

материала (г/СРМ). Затем значения были скорректированы с учетом фонового излучения и преобразованы в процент введенной дозы (%ID) и процент введенной дозы на грамм (%ID/г).

[0429] Для фармакокинетического анализа концентрацию (%ID/г) радиофармпрепарата в крови по результатам подсчета гамма-излучения в субвыборках крови собирали у 2 мышей и рассчитывали следующим образом:

Масса (вводимого раствора в образце) [г]=СРМ (образца) * (Масса (вводимого раствора в стандарте) [г])/ СРМ (стандарта)

Введенная масса (суммарная) [г]=(масса (вводимого мыши 1 раствора) [г] + (масса (вводимого мыши 2 раствора) [г])/2

%ID (образца)=(Масса (вводимого раствора в образце) [г])/ Введенная масса (суммарная) [г] * 100

%ID/мл (образца)=%ID (образца)/объем (образца) [мл]

[0430] Значения %ID субвыборки крови и плазмы также экстраполировали на значения общего содержания крови (всего тела) и плазмы, соответственно. Для экстраполяции использовали соотношение объем крови/масса тела=0,072 мл/кг (Diehl et al., 2001). Для расчета цельной плазмы использовали значение гематокрита 0,387.

[0431] Некомпаратментный анализ

[0432] Значения %ID/мл были преобразованы в единицы мкг/мл перед некомпаратментным анализом с использованием следующего уравнения:

Концентрация (мг/мл)=(Масса (вводимого раствора в образце) [г]/ объем (образца) [мл]) * (1*10⁶ [мг]/1 [г])

[0433] Регрессию проводили на значениях мкг/мл с помощью Python с использованием правил Phoenix WinNonlin (Certara) для определения конечной скорости клиренса λ_z . Параметры РК рассчитывались следующим образом:

AUC AUC [мкг ч мл⁻¹]= $\int_0^{tn} C(t)dt$

AUC (0-24) AUC [мкг ч мл⁻¹]= $\int_0^{24} C(t)dt$

AUC (0- ∞) (AUCinf) AUC [мкг ч мл⁻¹]= $\int_0^{tn} C(t)dt+C(tn)/\lambda_z$

AUCTail (AUCinf - AUC)/ AUCinf * 100

Объем распределения V_d [мл]=Доза [мкг]/ AUCinf [мкг ч мл⁻¹] * λ_z

Клиренс CL [мл ч⁻¹]=Доза [мкг]/ AUCinf [мкг ч мл⁻¹]

[0434] Результаты

[0435] РК-анализ

[0436] Диапазон фармакокинетических параметров рассчитывали для радиоактивно меченных антител [¹²⁵I]SIB-60143 и [¹²⁵I]SIB-61278 при дозах 10 мг/кг и 30 мг/кг (фиг. 15А, фиг. 15В и Таблица 3). Не было никаких признаков нестабильности *in vivo* с >95% активности, связанной с белками (фиг. 15А и 15В). Приблизительно 50-70% тестируемого образца выводилось из крови и плазмы через 24 часа после инъекции обоих антител при обоих уровнях доз. Период полувыведения [¹²⁵I]SIB-60143 из крови и плазмы при обеих дозах находился в диапазоне 275-375 часов. Период полувыведения [¹²⁵I]SIB-61278 был

дольше, чем у других антител при обоих уровнях дозы; 550-600 часов в плазме и 775-825 часов в крови. Значения клиренса были схожими при сравнении двух уровней дозы для каждого антитела в крови и плазме независимо.

[0437] Таблица 3: Результаты анализа NCA [¹²⁵I]SIB-60143 и [¹²⁵I]SIB-61278 при 10 мг/кг и 30 мг/кг

	Диапазон регрессии	[¹²⁵ I]SIB-60143 (10 мг/кг)		[¹²⁵ I]SIB-60143 (30 мг/кг)		[¹²⁵ I]SIB-61278 (10 мг/кг)		[¹²⁵ I]SIB-61278 (30 мг/кг)	
		кровь	плазма	кровь	плазма	кровь	плазма	кровь	плазма
C_{max} (мг/мл)	N/A	109	205	270	500	96	191	314	585
t_{1/2a} (ч)	5 мин - 4 ч	7,7	6,8	6,2	6,0	7,6	6,5	5,3	4,1
t_{1/2} (ч)	24 ч - 14 д	291	316	350	309	820	557	789	597
λ_z (ч ⁻¹)	24 ч - 14 д	0,0024	0,0022	0,0020	0,0022	0,0008	0,0012	0,0009	0,0012
t_{1/2} (ч)	3 д - 14 д	281	325	398	371	876	503	732	398
λ_z (ч ⁻¹)	3 д - 14 д	0,0025	0,0021	0,0017	0,0019	0,0008	0,0014	0,0009	0,0017
V_d (мл)	24 ч - 14 д	3,64	2,11	4,27	2,36	3,80	2,02	4,30	2,32
CL (мл/ч)	24 ч - 14 д	0,0087	0,0046	0,0084	0,0053	0,0032	0,0025	0,0038	0,0027
AUC (мг/мл, ч)	5 мин - 14 д	12000	21000	32000	56000	14000	25000	39000	69000
AUC_∞ (мг/мл, ч)	3 д - 14 д	22000	40000	66000	105000	56000	72000	149000	210000

[0438] Биораспределение

[0439] Биораспределение обоих антител *ex vivo* определяли через 24, 72, 168 и 336 часов после инъекции. На фиг. 16А показано, как [¹²⁵I]SIB-60143 в дозе 10 мг/кг у мышей с течением времени. На фиг. 16В показано [¹²⁵I]SIB-60143 в дозе 30 мг/кг у мышей с течением времени. На фиг. 16С показано [¹²⁵I]SIB-61278 в дозе 10 мг/кг у мышей с течением времени. На фиг. 16D показано [¹²⁵I]SIB-61278 в дозе 30 мг/кг у мышей с течением времени. Характер распределения был сходным для обоих антител при обеих дозах, с низкой концентрацией в мозге (от 0,39 ± <0,01 до 0,91 ± 0,51%ID/г) и поступлением в сердце (от 3,50 ± 0,03 до 10,69

$\pm 2,02\%ID/g$), почки (между $3,28 \pm 0,01$ и $8,40 \pm 1,37\%ID/g$), печень (между $1,85 \pm 0,01$ и $5,12 \pm 0,85\%ID/g$) и селезенку (между $1,77 \pm 0,05$ и $5,27 \pm 0,55\%ID/g$). Никакой разницы в концентрации при увеличении дозы не наблюдалось. Поглощение 61278 через 14 дней было выше во всех органах, чем 60143, что соответствует более длительному периоду полувыведения.

[0440] 50-70% тестируемого образца удалялось из крови и плазмы через 24 часа после инъекции обоих антител при обоих уровнях доз. Период полувыведения [^{125}I]SIB-60143 из крови и плазмы во всех диапазонах доз находился в диапазоне 275-375 часов. Период полувыведения [^{125}I]SIB-61278 был дольше, чем у других антител при обоих уровнях дозы; 550-600 часов в плазме и 775-825 часов в крови. Данные биораспределения были сопоставимы между обоими антителами при обоих уровнях доз. Поглощение [^{125}I]SIB-61278 через 14 дней было выше во всех органах, чем [^{125}I]SIB-60143, что соответствует более длительному периоду полувыведения.

Пример 9: Кристаллическая структура Fab клона 60143 антител

[0441] Рентгеновскую кристаллическую структуру Fab клона антител ABI-60143, содержащего вариабельный домен тяжелой цепи и легкой цепи, в комплексе с гамма-пептидом фибриногена P2, определяли с разрешением $1,5 \text{ \AA}$. Описанный кристалл был выращен способом диффузии пара висячей каплей в 96-луночной планшете с раствором осадителя, содержащим $0,1 \text{ M}$ какодилата натрия, pH 5,5 и 25% ПЭГ 4000. Кристалл подвергали криоохлаждению без дополнительного криопротектора путем захвата его в петлю непосредственно из ростовой капли и погружения ее в жидкий азот. Набор данных был собран на Swiss Light Source (SLS), канал X06DA (PXIII).

[0442] Обработка данных в MOSFLM (Battye et al., 2011) (CCP4) и AIMLESS (Evans & Murshudov, 2013) (CCP4) показала, что наиболее вероятной пространственной группой была P212121 с размерами элементарной ячейки $a=67,9 \text{ \AA}$, $b=73,3 \text{ \AA}$, $c=93,6 \text{ \AA}$ и $\alpha=\beta=\gamma=90,0^\circ$, что дает общий объем ячейки $465741,4 \text{ \AA}^3$. Расчет коэффициента Мэтьюза ($2,3 \text{ \AA}^3/\text{Да}$ и содержание растворителя $46,6\%$) показал, что, скорее всего, на асимметричное звено приходится один полный комплекс Fab-ABI-60143-P2. Модели для использования в молекулярной замене (MR) были выбраны с помощью BLAST, осуществляющего поиск последовательностей тяжелых и легких цепей Fab против PDB. Модели с наибольшей идентичностью последовательностей представляли собой бан1 (тяжелая цепь Fab) и 3pp3 (легкая цепь Fab). Большое количество кристаллических структур Fab в PDB выявило большое разнообразие углов изгиба между переменными и постоянными доменами. Такое разнообразие углов изгиба может привести к тому, что общая третичная структура двух в остальном высоко гомологичных Fab-фрагментов будет значительно различаться, что, в свою очередь, приводит к сбою MR. По этой причине шарнирные области между вариабельными и константными доменами тяжелой и легкой цепей были удалены. Были созданы четыре отдельных поисковых ансамбля MR (домены VH, CH, VL и CL). Аминокислотные остатки были удалены из CDR моделей тяжелого и легкого вариабельного домена после визуального осмотра в COOT, чтобы предотвратить любые потенциальные

столкновения на границе раздела с P2, которые также могли бы привести к сбою MR. Все четыре входных поисковых ансамбля, которые требовались для создания полного Fab, были правильно обнаружены с помощью MR с использованием PHASER (McCoy et al., 2007) (CCP4). На выходной модели MR провели 30 циклов уточнения желеобразного тела с использованием REFMAC5 (Vagin et al., 2004) (CCP4). Последовательность белка была мутирована, чтобы соответствовать последовательности Fab, с использованием CHAINSAW (Stein, 2008) (CCP4). Модель Fab ABI-60143 итеративно улучшали посредством последовательных циклов построения и уточнения модели, пока все упорядоченные области белка, видимые на картах электронной плотности, не были завершены. Пептидная цепь P2 была добавлена к модели вручную в COOT, а полная комплексная модель была уточнена в REFMAC5. Окончательная модель белка содержала остатки 410-421 из цепи A (пептид P2), 1-127 и 134-214 из цепи H (тяжелая цепь Fab) и 1-213 из цепи L (легкая цепь Fab). Итоговый Rwork=16,8%, Rfree=20,5%.

[0443] На асимметричную единицу приходилось по одной копии Fab ADI-60143 и пептида P2. Канонические структуры CDR Fab ABI-60143 анализировали в соответствии с базой данных PyIgClassify (Adolf-Bryfogle et al., 2014). CDR тяжелой цепи были классифицированы следующим образом: H1-13-1 (кластер длины CDR) и H2-10-1. CDR H3 не была классифицирована. CDR легкой цепи были классифицированы следующим образом: L1-16-1, L2-8-1 и L3-9-cys7-1.

[0444] Каждый пептид P2 связывался с одним Fab. Складка была аналогичной, но не такой, как в опубликованных кристаллических структурах гамма-цепи фибриногена, таких как PDB ID: 1fzc.

Таблица: 4. Анализ интерфейса Fab ADI-60143 и пептида P2

Список водородных связей Мономер 1	Длина (Å)	Мономер 2
A:LYS 411 [NZ]	2,83	H:ASP 54 [OD2]
A:LYS 411 [NZ]	2,78	H:ASP 52 [OD2]
A:LYS 411 [NZ]	3,34	H:ASP 54 [OD1]
A:ASN 416 [O]	3,95	H:SER 95 [OG]
A:ASN 416 [O]	3,42	H:LYS 96 [N]
A:ASN 416 [O]	3,46	H:LYS 96 [O]
A:ARG 417 [NE]	3,43	H:TRP 33 [NE1]
A:ARG 417 [NE]	3,71	H:SER 31 [O]
A:ARG 417 [NH1]	3,50	H:SER 31 [O]
A:ARG 417 [O]	3,68	H:SER 95 [OG]
A:ARG 417 [O]	2,83	H:HIS 35 [NE2]

A:LEU 418 [O]	3,28	L:ASN 91 [OD1]
A:THR 419 [O]	2,94	H:LYS 96 [N]
A:ILE 420 [N]	3,58	L:TYR 36 [OH]
A:ILE 420 [O]	2,52	L:TYR 36 [OH]
A:GLY 421 [N]	3,02	H:SER 94 [O]
A:GLY 421 [OXT]	3,77	H:GLY 102 [N]
A:GLY 421 [OXT]	3,74	H:GLY 101 [O]

Таблица: 5 Остатки, находящиеся на поверхности раздела Fab ADI-60143

Peptide P2

Fab ADI-60143

A:LYS 411

H:SER 31

A:ILE 412

H:TRP 33

A:ILE 413

H:HIS 35

A:PHE 415

H:LEU 50

A:ASN 416

H:ASP 52

A:ARG 417

H:ASP 54

A:LEU 418

H:TYR 56

A:THR 419

H:ALA 93

A: ILE 420

H:SER 94

A: GLY 421

H:LYS 96

H:PRO 97

H:GLY 101

H:GLY 102

H:TRP 103

L:HIS 27

L:TYR 32

L:TYR 36

L:LEU 46

L:ASN 91

L:LEU 92

L:LEU 94

L:LEU 96

Таблица 6: Статистика сбора, обработки и уточнения данных

Синхротрон, канал пучка	SLS, PXIII
Дата сбора данных	26/08/2021
Длина волны (Å)	1,286281

Тип детектора	DECTRIS PILATUS 2M-F
Передача (%)	100
Температура (К)	100
Время экспозиции (с)	0,05
Диапазон колебаний на кадр (°)	0,10
Общий поворот (°)	180
Диапазон разрешения (Å) (общая и последняя оболочка)	46,81-1,50 (1,53-1,50)
Количество наблюдаемых отражений (общее и последняя оболочка)	462407 (14052)
Количество уникальных отражений (общее и последняя оболочка)	75227 (3612)
Кратность (общая и последняя оболочка)	6,1 (3,9)
Комплектность (%) (общая и последняя оболочка)	99,7 (97,7)
Rmerge (%) (общая и последняя оболочка)	9,2 (104,7)
Среднее I/сигма (общая и последняя оболочка)	11,2 (1,1)
CC(1/2) (общая и последняя оболочка)	0,998 (0,429)
пространственная группа	<i>P212121</i>
Параметры элементарной ячейки (Å), (°)	67,89 73,28 93,62 90,00 90,00 90,00
Программа доработки	REFMAC5
Диапазон разрешения (Å)	46,81-1,50
Количество отражений (рабочие/тестовые)	71309/3845
Rwork (%)	16,8
Rfree (%)	20,5
Смоделированные Белковые остатки	418
Число смоделированных атомов белка	3320
Число смоделированных атомов воды	721
RMSD длины связей (Å)	0,012
RMSD углы связей (°)	1,690
Среднее значение белка B (Å ²)	16,4
Среднее значение воды B (Å ²)	29,1
Предпочтение карты Рамачандрана (%)	97,85
Разрешен участок Рамачандрана (%)	1,67

Область маргинальных остатков по карте Рамачандрана (%)	0,48
---	------

Пример 10: Кристаллическая структура Fab клона антител ADI-61278.

[0445] Рентгеновскую кристаллическую структуру клона Fab-антитела ADI61278, содержащего варибельный домен тяжелой цепи и легкой цепи, в комплексе с гамма-пептидом фибриногена P2, анализировали с разрешением 1,8 Å. Описываемый кристалл был выращен с использованием способа диффузии пара висячей каплей в 96-луночном планшете с раствором осадителя, содержащим 1% (м/о) триптона, 0,001 М азида натрия, 0,05 М натрия HEPES pH 7,0 и 20% ПЭГ 3350. Кристалл подвергали криоохлаждению путем кратковременного переноса в раствор, содержащий четыре части раствора осадителя и одну часть 100% (о/о) глицерина, прежде чем захватить его в контур и погрузить в жидкий азот. Набор данных был собран в Diamond Light Source (DLS), канал пучка i03.

[0446] Обработка данных в MOSFLM (Battye et al., 2011) (CCP4) и AIMLESS (Evans & Murshudov, 2013) (CCP4) показала, что наиболее вероятной пространственной группой была P21221 с размерами элементарной ячейки $a=47,0$ Å, $b=79,0$ Å, $c=144,3$ Å и $\alpha=\beta=\gamma=90,0^\circ$, что дает общий объем ячейки 534840,2 Å³. Расчет коэффициента Мэтьюза (2,8 Å³/Да и содержание растворителя 55,8%) показал, что, скорее всего, на асимметричное звено приходится один полный комплекс Fab-ADI61278-P2. Модель Fab-ADI61278 была выбрана для использования в молекулярном замещении (MR). Большое количество кристаллических структур Fab в PDB выявило большое разнообразие углов изгиба между переменными и постоянными доменами. Такое разнообразие углов изгиба может привести к тому, что общая третичная структура двух в остальном высоко гомологичных Fab-фрагментов будет значительно различаться, что, в свою очередь, приводит к сбою MR. По этой причине шарнирные области между варибельными и константными доменами тяжелой и легкой цепей были удалены. Были созданы два отдельных ансамбля поиска MR (гетеродимер VH-VL и гетеродимер CH-CL). Оба входных поисковых ансамбля, которые требовались для создания полного Fab, были правильно обнаружены с помощью MR с использованием PHASER (McCoy et al., 2007) (CCP4). Выходная модель MR получила 30 циклов уточнения желеобразного тела с использованием REFMAC5 (Vagin et al., 2004) (CCP4). Последовательность белка была мутирована, чтобы соответствовать последовательности Fab-ADI61278, с использованием CHAINSAW (Stein, 2008) (CCP4). Модель Fab ADI61278 итеративно улучшали посредством последовательных циклов построения и уточнения модели, пока все упорядоченные области белка, видимые на картах электронной плотности, не были завершены. Цепь пептида P2 была добавлена к модели вручную в COOT, а полная комплексная модель была уточнена в REFMAC5. Окончательная модель белка содержала остатки 410-421 из цепи А (пептид P2), 1-126 и 133-214 из цепи Н (тяжелая цепь Fab) и 1-213 из цепи L (легкая цепь Fab). Итоговый $R_{work}=19,1\%$, $R_{free}=24,0\%$.

[0447] На асимметричную единицу приходилось по одной копии Fab ADI61278 и пептида P2. Канонические структуры CDR Fab ADI61278 анализировали в соответствии с базой данных PyIgClassify (Adolf-Bryfogle et al., 2014). CDR тяжелой цепи были

классифицированы следующим образом: H1-13-1 (кластер длины CDR), H2-10-1 и H3-8-1. CDR легкой цепи были классифицированы следующим образом: L1-16-1, L2-8-1 и L3-9-cys7-1. Каждый пептид P2 связан с одним Fab. Складка аналогична, но не такая же, как в опубликованных кристаллических структурах гамма-цепи фибриногена, таких как PDB ID: 1fzc.

Таблица: 7: Анализ интерфейса Fab ADI-61278 и пептида P2

Мономер 1	Длина (Å)	Мономер 2
A:LYS 411 [NZ]	2,71	H:ASP 54 [OD2]
A:LYS 411 [NZ]	2,74	H:ASP 52 [OD2]
A:LYS 411 [NZ]	3,34	H:ASP 54 [OD1]
A:ASN 416 [O]	3,31	H:ASP 96 [N]
A:ASN 416 [O]	3,65	H:ASP 96 [OD1]
A:ASN 416 [O]	3,62	H:ASP 96 [OD2]
A:ASN 416 [OD1]	3,22	L:GLN 50 [NE2]
A:ARG 417 [NE]	3,25	H:TRP 33 [NE1]
A:ARG 417 [NE]	4,00	H:ASP 96 [OD1]
A:ARG 417 [NH1]	3,75	H:TRP 33 [NE1]
A:ARG 417 [NH1]	3,32	H:SER 31 [O]
A:ARG 417 [NH2]	3,08	H:SER 31 [O]
A:ARG 417 [NH2]	3,87	H:SER 95 [OG]
A:ARG 417 [NH2]	2,90	H:ASP 96 [OD1]
A:ARG 417 [NH2]	3,71	H:ASP 96 [OD2]
A:ARG 417 [O]	2,78	H:HIS 35 [NE2]
A:THR 419 [O]	3,13	H:ASP 96 [N]
A:THR 419 [O]	3,83	H:HIS 35 [NE2]
A:ILE 420 [N]	3,48	L:TYR 36 [OH]
A:ILE 420 [O]	2,57	L:TYR 36 [OH]
A:GLY 421 [N]	2,71	H:SER 94 [O]
A:GLY 421 [O]	3,64	H:THR 98 [N]
A:GLY 421 [O]	2,94	H:GLY 101 [N]
A:GLY 421 [OXT]	3,96	H:ASP 96 [N]
A:GLY 421 [OXT]	3,62	H:SER 94 [O]
A:GLY 421 [OXT]	3,58	H:SER 95 [O]
A:GLY 421 [OXT]	3,00	H:THR 98 [N]
A:GLY 421 [OXT]	3,89	H:THR 98 [OG1]

A:GLY 421 [OXT]	3,63	H:GLY 101 [N]
A:GLY 421 [OXT]	3,02	H:ALA 97 [N]

Таблица 8: Список участвующих остатков поверхности раздела

Пептид *P2**Fab ADI-61278*

A:LYS 411	H:SER 31
A:ILE 413	H:TYR 32
A:PHE 415	H:TRP 33
A:ASN 416	H:HIS 35
A:ARG 417	H:TRP 47
A:LEU 418	H:ASP 52
A:THR 419	H:ASP 54
A: ILE 420	H:TYR 56
A: GLY 421	H:SER 94
	H:SER 95
	H:ASP 96
	H:ALA 97
	H:THR 98
	H:GLY 101
	H:GLY 102
	H:TRP 103
	L:HIS 27
	L:TYR 32
	L:TYR 36
	L:LEU 46
	L:TYR 49
	L:GLN 50
	L:ALA 91
	L:LEU 92
	L:LEU 94
	L:LEU 96

Таблица 9: Статистика сбора данных, обработки и уточнения статистики

Синхротрон, канал пучка	DLS, i03
Дата сбора данных	24/09/2021
Длина волны (Å)	0,9763
Тип детектора	DECTRIS EIGER2 XE 16M

Передача (%)	23,84
Температура (К)	100
Время экспозиции (с)	0,004
Диапазон колебаний на кадр (°)	0,10
Общий поворот (°)	360
Диапазон разрешения (Å) (общая и последняя оболочка)	44,65-1,80 (1,84-1,80)
Количество наблюдаемых отражений (общее и последняя оболочка)	681993 (41185)
Количество уникальных отражений (общее и последняя оболочка)	50679 (2967)
Кратность (общая и последняя оболочка)	13,5 (13,9)
Комплектность (%) (общая и последняя оболочка)	100,0 (100,0)
Rmerge (%) (общая и последняя оболочка)	9,5 (175,5)
Среднее I/сигма (общая и последняя оболочка)	14,7 (1,4)
CC(1/2) (общая и последняя оболочка)	0,999 (0,669)
пространственная группа	<i>P21221</i>
Параметры элементарной ячейки (Å), (°)	46,95 78,96 144,26 90,00 90,00 90,00
Программа доработки	REFMAC5
Диапазон разрешения (Å)	44,65-1,80
Количество отражений (рабочие/тестовые)	48037/2583
Rwork (%)	19,1
Rfree (%)	24,0
Смоделированные Белковые остатки	419
Число смоделированных атомов белка	3310
Число смоделированных атомов воды	421
RMSD длины связей (Å)	0,005
RMSD углы связей (°)	1,300
Среднее значение белка B (Å ²)	32,9
Среднее значение воды B (Å ²)	42,3
Предпочтение карты Рамачандрана (%)	97,61
Разрешен участок Рамачандрана (%)	2,15
Область маргинальных остатков по карте Рамачандрана (%)	0,24

Пример 11: Fab ADI-60143 и ADI-61278 связываются на С-конце пептида P2 и демонстрируют наибольшие различия в областях CDR-3.

[0448] Кристаллические структуры FAB клонов ADI-60143 и ADI-61278 антител, описанные выше, были наложены друг на друга, и сайты связывания пептида P2 сравнивали, как показано на фиг. 17 и 18. Эти результаты показывают, что Fab ADI-60143 и ADI-61278 оба связываются на С-конце пептида P2, а также показывают, что большинство различий расположены в областях CDR-3 двух Fab.

[0449] Связывание Fab ADI-60143 и ADI-61278 с пептидом P2 определяли, как описано в примере 2, с использованием Octet RED384 (фиг. 19). Варианты аминокислот в CDR1 и CDR3 объясняют различия в скоростях включения и выключения связывания между Fab ADI-60143 и ADI-61278, взаимодействующими с пептидом P2.

[0450] Связывание Fab ADI-60143 и полноразмерного IgG ADI-60143 с крысиным, мышинным или человеческим пептидом P2 и удлиненным пептидом P2 также определяли с помощью ELISA (фиг. 20 и 21). Сходные профили связывания наблюдались для трех пептидов P2 разных видов. Однако удлиненный пептид P2 трех видов плохо связывался с IgG ADI-60143 (фиг. 21).

Пример 12. Терапевтическое лечение с помощью ADI-60143 ингибирует активацию микроглии и рекрутирование макрофагов в модели PD индуцированного фибрином энцефалита (FIE)

[0451] Чтобы проверить эффективность клонов антител с созревшей аффинностью для ингибирования активации микроглии и рекрутирования макрофагов при лечении нервных дегенеративных заболеваний и воспалений, использовали мышиную модель индуцированного фибрином энцефалита (FIE). Шести мышам в группе, всего 78 мышей, вводили фибриноген посредством стереотаксической инъекции в мозолистое тело. Антитела вводили посредством внутривенной (IV) инъекции. Через четыре часа после инъекции фибриногена мышам внутривенно вводили гуманизированные противофибриновые антитела с созревшей аффинностью (10 мг/кг или 30 мг/кг). Ткань головного мозга готовили через три дня после инъекции. Для иммуногистохимического и количественного анализа были включены образцы 73 мышей. Корональные срезы (30 мкм) были приготовлены на криостате. Срезы инкубировали с антителом против Iba-1 (маркер микроглии, 1:750) для обнаружения активации микроглии и с антителом против Mac-2 (маркер инфильтрации макрофагов, 1:750). Затем рассчитывали иммунореактивность Iba-1 (область Iba-1+) и Mac-2 (область Mac-2+), а сбор изображений и количественную оценку проводили вслепую.

[0452] Как показано на фиг. 22, наблюдалось значительное снижение как активации микроглии, так и рекрутирования макрофагов у мышей, которым вводили 30 мг/кг ADI-60143. Снижение также было больше, чем было измерено у мышей, которым вводили исходные гуманизированные антитела 5B8 (THN227), которые не подверглись созреванию аффинности. Эти результаты подтверждают, что клон антител с созревшей аффинностью 60143 терапевтически эффективен для ингибирования активации микроглии и

рекрутирования макрофагов для лечения нервных дегенеративных заболеваний или состояний и/или нервного воспаления.

Пример 13: Клон ADI-60143 антител эффективен на доклинической модели MS

[0453] Чтобы проверить терапевтическую эффективность клонов антител с созревшей аффинностью для лечения рассеянного склероза (MS), использовали доклиническую модель MS, экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (EAE). EAE индуцировали путем иммунизации PLP139-151/CFA (Hook Kit™ PLP139-151/CFA Emulsion, каталожный номер EK-0120, Hooke Laboratories, Lawrence MA) в нулевой день. Мышам EAE делали терапевтические инъекции, начиная со 2 дня и до 44 дня для дексаметазона и до 33 дня для всех других групп, только PBS, изотипический контроль - только IgG1 человека (huIgG), клон 60143 антител (ABI-60143) или дексаметазон внутривнутрибрюшинно по 5 мг/кг два раза в неделю. Ткань спинного мозга мышей собирали у мышей с EAE на пике заболевания или у здоровых мышей и проводили иммуногистохимическое (ИНС) окрашивание ткани спинного мозга для определения распределения лекарственных антител в ткани позвоночника и демиелинизации.

[0454] Для окрашивания ИНС свежесобранную нефиксированную ткань помещали в соединение ОСТ внутри криоформы. Криоформу помещали в изопентан, смешанный с сухим льдом, для замораживания, а замороженную ткань хранили при -80°C. Срезы тканей вырезали толщиной 10 мкм в криостате и монтировали на предметные стекла. Стекла окрашивали путем немедленной фиксации в ледяном 4% параформальдегиде в PBS в течение 10 минут при 4°C. Стекла блокировали неспецифическое связывание первичных антител с тканью путем инкубации в блокирующем буфере (3% бычьего сывороточного альбумина в PBS; Millipore Sigma, A9576) в течение 30 минут при 25°C. Для обнаружения биотинилированных антител, инъецированных в ткань перед срезом, конъюгированный с Су3 стрептавидин (1:100; SA1010, Thermo Fischer Scientific) разводили в PBS, наносили на срезы ткани и инкубировали в течение 30 минут при 25°C. Для окрашивания фибрина антитела (1:2000, кроличьи поликлональные противифибриногенные), разведенные в PBS, добавляли к срезам ткани и инкубировали в течение 60 минут при 25°C. Затем в каждый срез добавляли ослиный антикроличий IgG FITC (1:500 в PBS, Jackson ImmunoResearch) и инкубировали в течение 30 минут при 25°C.

[0455] Как показано на фиг. 24, антитела с созревшей аффинностью (ABI-60143) локализовывались в спинном мозге у мышей EAE на пике заболевания. Это подтверждает, что антитела с созревшей аффинностью хорошо распределяются в пораженной ткани позвоночника.

[0456] Процент демиелинизации срезов ткани определяли количественно путем определения процента площади, лишенной окрашивания основным белком миелина (МВР). Как показано на фиг. 24А, процент демиелинизации был значительно снижен дозозависимым образом у мышей, которым вводили клон 60143 антител.

[0457] Мышей также оценивали на наличие паралича задних конечностей, и проводили клиническую оценку. Как показано на фиг. 24В, наблюдалось дозозависимое

снижение демиелинизации и полного паралича задних конечностей у мышей ЕАЕ, которым вводили клон антител с созревшей аффинностью 60143.

[0458] Клиническую оценку ЕАЕ оценивали по критериям, показанным в таблице ниже:

Оценк а	Клинические наблюдения
0	Никаких явных изменений двигательных функций мыши по сравнению с неиммунизированными мышами. При взятии за хвост, хвост напряжен и стоит прямо. Задние ноги обычно расставлены в стороны. При ходьбе мышь не ходит и не наклоняет голову.
1	Вялый хвост. Когда мышь берут за хвост, вместо того, чтобы стоять прямо, весь хвост нависает над пальцем.
2	Вялый хвост и слабость задних конечностей. Когда мышь берут за хвост, лапки не раздвигаются, а сближаются. Если наблюдать за мышью во время ходьбы, у нее наблюдается аномальная шаткая походка.
3	Вялый хвост и полный паралич задних конечностей (наиболее часто). ИЛИ Вялый хвост с параличом одной передней и одной задней ноги. ИЛИ Все: • Сильный наклон головы, • Ходьба только по краям клетки, • Прижимается к стенке клетки, • Крутится, когда ее держат за хвост.
4	Вялый хвост, полный паралич задней ноги и частичный паралич передней ноги. Мышь минимально перемещается по клетке, но выглядит настороженной и ест. Обычно эвтаназию рекомендуют после того, как мышь достигнет уровня 4 в течение 2 дней. Когда мышь подвергают эвтаназии из-за тяжелого паралича, этой мыши ставят оценку 5 до конца эксперимента.
5	Полный паралич задних и передних конечностей, отсутствие движения по клетке. ИЛИ Мышь самопроизвольно катается по клетке. ИЛИ Мышь найдена мертвой из-за паралича.

[0459] В обеих группах отрицательного контроля (носителя и изотипического контроля) развился ЕАЕ, как и ожидалось для этой модели. Средняя максимальная тяжесть (ММС) первой волны ЕАЕ составила 2,4 и 2,5 для группы носителя и изотипического контроля, соответственно. Частота рецидивов составила 73% и 60% для группы носителя и изотипического контроля, соответственно. ММС периода рецидива составлял 2,3 и 1,9 для группы носителя и изотипического контроля, соответственно. Заболевание в этих группах имело типичное течение и тяжесть для этой модели. Как показано на фиг. 25, у мышей, которым вводили АВ1-60143-LALA IgG (клон 60143 антител, содержащий мутации LALA со стабилизирующими Fc), наблюдалось снижение заболеваемости, о чем свидетельствует значительно сниженный средний клинический показатель ЕАЕ, без обнаруживаемого

заболевания через 17 дней после иммунизации.

[0460] Чтобы подтвердить, что антитела с созревшей аффинностью уменьшают воспаление, сегменты шейного, грудного и поясничного отделов спинного мозга (3 сегмента) были подготовлены и окрашены: Н и Е, а также анти-CD4/анти-CD11b (антитела с двойной меткой). В каждом срезе, окрашенном Н&Е, подсчитывали воспалительные очаги, состоящие приблизительно из 20 клеток. Когда воспалительные инфильтраты состояли из более чем 20 клеток, оценивали количество очагов по 20 клеток. Как показано на фиг. 26А, наблюдалось значительное снижение количества воспалительных очагов в срезах тканей мышцей ЕАЕ, которым вводили клон антител ABI-60143 IgG или ABI-60143-LALA IgG, по сравнению с изотипическим контролем. Также наблюдалось значительное снижение провоспалительного маркера CD11b в срезах тканей мышцей ЕАЕ, которым вводили клон антител ABI-60143 IgG или ABI-60143-LALA IgG, по сравнению с изотипическим контролем (фиг. 26В). Эти результаты подтверждают, что антитела с созревшей аффинностью ABI-60143 IgG и ABI-60143-LALA IgG способны уменьшать воспаление на доклинической модели MS.

[0461] В совокупности эти результаты подтверждают, что гуманизированные противофибриновые антитела с созревшей аффинностью является терапевтически эффективным в доклинической модели MS.

Пример 14: Противофибриновое лечение P2 уменьшает воспаление на модели увеита

[0462] Экспериментальный аутоиммунный увеит (EAU) представляет собой органоспецифическое аутоиммунное заболевание, поражающее нейроны сетчатки. Этот аутоиммунный ответ индуцируется, когда животных иммунизируют антигенами сетчатки (в данном случае интерфоторецепторным ретиноид-связывающим белком [IRBP]). Чтобы подтвердить терапевтическую роль противофибринового лечения при воспалительных состояниях или заболеваниях глаз, эффективность антител с созревшей аффинностью к фибрину тестировали на модели экспериментального аутоиммунного увеита (EAU) у крыс после интравитреального введения противофибриновых антител.

[0463] В этом исследовании 52 крысы Льюиса были разделены на шесть групп, а именно PBS (группа 1), изотипический контроль (группа 2), низкая доза ABI-60143 (группа 3), высокая доза ABI-60143 (группа 4), положительный контроль FTY-720 (группа 5) и без лечения (группа 6). Животных из всех групп, кроме группы 6, в 0 день иммунизировали эмульсией IRBP в полном адьюванте Фрейнда (CFA). Аналогичным образом, животные из групп 1-4 получали однократную интравитреальную инъекцию тестируемого препарата спонсоров один раз в 0 день. Животные в группе 5 получали перорально один раз в день положительный контроль FTY-720. Через 8-10 дней у иммунизированных животных развился увеит каждого глаза. Клинические оценки проводили для всех животных исходно, на 4, 7, 11 и 14 дни, чтобы отслеживать степень развившегося заболевания. Клинические наблюдения проводились следующим образом:

Частота: один раз в каждый день исследования

Методика: Группы были рандомизированы перед проведением оценок для маскировки от эксперта. Животных наблюдали под диссекционным микроскопом и оценивали по шкале от 0 до 4 в зависимости от их предшествующего клинического заболевания. Фотографии передней камеры были сделаны во время клинического обследования.

Оценка клинического наблюдения:

0-0,5: заболевания нет; глаз полупрозрачный. Некоторые кровеносные сосуды радужной оболочки могут быть расширены.

1: Набухшие кровеносные сосуды радужной оболочки; аномальное сужение (или расширение) зрачка.

2: Незначительное помутнение передней камеры.

3: Передняя камера умеренно непрозрачна, но зрачок все еще виден.

4: Непрозрачная передняя камера и затемненный зрачок.

[0464] Всех животных подвергали эвтаназии на 14 день, и сразу после эвтаназии брали целые глаза (OU). При подтверждении смерти оба глаза каждого животного осторожно извлекали. Один глаз брали для гистологического анализа, а другой глаз брали для анализа цитокинов. Глаза для анализа цитокинов рассекали путем гемисекции, и брали сетчатку. Каждый глаз был тщательно ориентирован для оптимального микроскопического исследования перед заливкой воском. Срезы (5 мкм) вырезали и окрашивали гематоксилином и эозином для гистологического исследования и оценки в соответствии со следующей шкалой, обобщенной ниже, и как описано Caspi, et al. (2012). Гистологический анализ был скрыт от исследователя.

Клиническая оценка/классификация увеита определялась следующим образом:

0: заболевания нет, архитектура сетчатки нормальная.

0,5: След. $< 1/4$ Легкая воспалительная клеточная инфильтрация сетчатки с повреждением фоторецепторов или без него.

1: $\geq 1/4$ Легкое воспаление и/или повреждение внешнего сегмента фоторецептора.

2: $\geq 1/4$ Легкое или умеренное воспаление и/или поражение, распространяющееся на наружный ядерный слой.

3: $\geq 1/4$ Воспаление от умеренного до выраженного и/или поражение, распространяющееся на внутренний ядерный слой.

4: $\geq 1/4$ Сильное воспаление и/или полнослойное повреждение сетчатки.

[0465] Как показано на фиг. 27, крысы, которым вводили низкую или высокую дозу муринизированного клона антител, стабилизированного ADI-60143-LALA Fc, демонстрировали значительно сниженную клиническую оценку увеита на 14 день исследования. Эти результаты подтверждают, что противифибриновые антитела с созревшей аффинностью уменьшают воспаление у субъектов с увеитом и являются терапевтически эффективными на доклинической модели глазных заболеваний, связанных с сосудистыми дефектами глаза, такими как увеит.

[0466] Хотя изобретение было конкретно показано и описано со ссылкой на

предпочтительный вариант осуществления и различные альтернативные варианты осуществления, специалистам в соответствующей области будет понятно, что в нем могут быть сделаны различные изменения в форме и деталях, без отклонения от сути и объема изобретения.

[0467] Все ссылки, выданные патенты и заявки на патенты, цитированные в тексте настоящего описания, включены в настоящий документ посредством ссылки полностью для всех целей.

Неофициальный перечень последовательностей

Описание	Последовательность	SEQ ID NO
56666 CDR-H1	YTFTSYWIH	SEQ ID NO: 1
56666 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 2
56666 CDR-H3	ASSDPTGG	SEQ ID NO: 3
56666 CDR-L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 4
56666 CDR-L2	QMSNLAS	SEQ ID NO: 5
56666 CDR-L3	AQNLELPLT	SEQ ID NO: 6
56666 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASDPTGGWGQGT TVTSS	SEQ ID NO: 7
56666 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 8
56666 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 9
56666 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEADVGVYYCAQNLELPLTFGGGKVEIK	SEQ ID NO: 10

56666 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCASSDPTGGWGQGT TVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHPEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 11
56666 VL+CL	AEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTL KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 12
61289 CDR- H1	YTFTSSWIH	SEQ ID NO: 13
61289 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 14
61289 CDR- H3	ASSDPHGG	SEQ ID NO: 15
61289 CDR- L1	RSSKSLHSSGITMLS	SEQ ID NO: 16
61289 CDR- L2	QMSNLAS	SEQ ID NO: 17
61289 CDR- L3	AQSLELPLT	SEQ ID NO: 18
61289 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCASSDPHGGWGQGT TVTSS	SEQ ID NO: 19
61289 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHPEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG	SEQ ID NO: 20

	QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
61289 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTYLSSTLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 21
61289 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITMLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQSLELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 22
61289 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSDPHGGWGQGT TVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVIV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 23
61289 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITMLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQSLELPLTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTYLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 24
61275 CDR-H1	YTFTSSWIH	SEQ ID NO: 25
61275 CDR-H2	LIDPSDSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 26
61275 CDR-H3	ASSAPTGG	SEQ ID NO: 27
61275 CDR-L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 28
61275 CDR-L2	QMSNLAG	SEQ ID NO: 29
61275	AQALELPLT	SEQ ID NO:

CDR-L3		30
61275 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTSSWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSD SYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSAPTGGWGQGT TVT VSS	SEQ ID NO: 31
61275 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 32
61275 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTL KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 33
61275 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 34
61275 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTSSWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSD SYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSAPTGGWGQGT TVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 35
61275 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGGTKVEIKRTV	SEQ ID NO: 36

	AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
61278 CDR-H1	YTFTSYWIH	SEQ ID NO: 37
61278 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 38
61278 CDR- H3	ASSDATGG	SEQ ID NO: 39
61278 CDR- L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 40
61278 CDR- L2	QMSNLAS	SEQ ID NO: 41
61278 CDR- L3	AQALELPLT	SEQ ID NO: 42
61278 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSDATGGWGQGT TVTSS	SEQ ID NO: 43
61278 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 44
61278 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLS KADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 45
61278 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 46
61278 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSDATGGWGQGT TVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY	SEQ ID NO: 47

	FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
61278 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEADVGVYYCAQALELPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 48
61285 CDR- H1	YTFTSSWIH	SEQ ID NO: 49
61285 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 50
61285 CDR- H3	ASSDPHGG	SEQ ID NO: 51
61285 CDR- L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 52
61285 CDR- L2	QMSNLAS	SEQ ID NO: 53
61285 CDR- L3	AQSLELPLT	SEQ ID NO: 54
61285 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASDPHGGWGQGT TVTSS	SEQ ID NO: 55
61285 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR	SEQ ID NO: 56

	WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
61285 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 57
61285 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQSLELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 58
61285 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSTNYNQQFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASDPHGGWGQGT TVTSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVIV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 59
61285 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQSLELPLTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 60
61273 CDR-H1	YTFTSTWIH	SEQ ID NO: 61
61273 CDR- H2	LIDPSDSTNYNQQFRG	SEQ ID NO: 62
61273 CDR-H3	ASSKPTGG	SEQ ID NO: 63
61273 CDR-L1	RSSKSLHSSGITYIS	SEQ ID NO: 64
61273 CDR-L2	QMSNLAG	SEQ ID NO: 65
61273 CDR-L3	AQNLELPLT	SEQ ID NO: 66
61273 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSTWIHW	SEQ ID NO: 67

	VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCASSKPTGGWGQGT TVTSS	
61273 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 68
61273 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTL KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 69
61273 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYISW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 70
61273 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSTWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCASSKPTGGWGQGT TVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 71
61273 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYISW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLKADY	SEQ ID NO: 72

	EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
60183 CDR-H1	YTFTSTWIH	SEQ ID NO: 73
60183 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 74
60183 CDR-H3	ASSKPTGG	SEQ ID NO: 75
60183 CDR-L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 76
60183 CDR-L2	QMSNLAS	SEQ ID NO: 77
60183 CDR-L3	AQNLELPLT	SEQ ID NO: 78
60183 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTSTWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSY TNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCASSKPTGGWGQGT TVTSS	SEQ ID NO: 79
60183 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 80
60183 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDYSLSTLTLTKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	SEQ ID NO: 81
60183 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS CRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAS GVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLE LPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 82
60183 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTSTWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSY TNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCASSKPTGGWGQGT TVTSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDK KVEPKSCDKTHT	SEQ ID NO: 83

	CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
60183 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 84
61283 CDR-H1	YTFTSAWIH	SEQ ID NO: 85
61283 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 86
61283 CDR-H3	ASSDPYGG	SEQ ID NO: 87
61283 CDR-L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 88
61283 CDR-L2	QMSNKAS	SEQ ID NO: 89
61283 CDR-L3	AQSLELPLT	SEQ ID NO: 90
61283 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSAWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSDPYGGWGQGT TQVTVSS	SEQ ID NO: 91
61283 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 92

61283 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLK KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 93
61283 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNKASGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQSLELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 94
61283 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSAWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCASSDPYGGWGQGT TVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVIV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 95
61283 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNKASGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQSLELPLTFGGGTKVEIKQVQL VQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSAWIHWVRQA PGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTVDTST TAYMELSSLRSEDTA VYYCASSDPYGGWGQGTTVT V SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVIVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 96
61286 CDR-H1	YTFTSTWIH	SEQ ID NO: 97

61286 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 98
61286 CDR-H3	ASSDLTGG	SEQ ID NO: 99
61286 CDR-L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 100
61286 CDR-L2	QMSNLAS	SEQ ID NO: 101
61286 CDR-L3	AQALELPLT	SEQ ID NO: 102
61286 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSTWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSDLTGGWGQGT TVTSS	SEQ ID NO: 103
61286 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 104
61286 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPR VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 105
61286 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSTDFSL KISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 106
61286 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSTWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSDLTGGWGQGT TVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS	SEQ ID NO: 107

	KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
61286 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFSL KISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 108
61279 CDR-H1	YTFKSYWIH	SEQ ID NO: 109
61279 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQIFRG	SEQ ID NO: 110
61279 CDR-H3	ASSDATGG	SEQ ID NO: 111
61279 CDR-L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 112
61279 CDR-L2	QMSNLAG	SEQ ID NO: 113
61279 CDR-L3	AQALELPLT	SEQ ID NO: 114
61279 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFKSYWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQIFRGRVTMTVD TSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSDATGGWGQGT TVVSS	SEQ ID NO: 115
61279 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 116
61279 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLS KADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 117
61279 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW	SEQ ID NO: 118

	YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGTKVEIK	
61279 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFKSYWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQIFRGRVTMTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSDATGGWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 119
61279 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTL KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 120
56657 CDR-H1	YTFTSTWIH	SEQ ID NO: 121
56657 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 122
56657 CDR-H3	ASSKPTGG	SEQ ID NO: 123
56657 CDR-L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 124
56657 CDR-L2	QMSNLAG	SEQ ID NO: 125
56657 CDR-L3	AQNLELPLT	SEQ ID NO: 126
56657 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSDPTGGWGQGT VTVSS	SEQ ID NO: 127
56657 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL	SEQ ID NO: 128

	GTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
56657 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 129
56657 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 130
56657 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSDPTGGWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 131
56657 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 132
61255 CDR- H1	YTFTSYWIH	SEQ ID NO: 133
61255 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 134
61255	ASSDATGG	SEQ ID NO:

CDR-H3		135
61255 CDR-L1	RSSKSLHSSGHTYLS	SEQ ID NO: 136
61255 CDR-L2	QMSNLAS	SEQ ID NO: 137
61255 CDR-L3	AQALELPLT	SEQ ID NO: 138
61255 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSDATGGWGQGTT VTVSS	SEQ ID NO: 139
61255 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 140
61255 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTL KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 141
61255 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGHTYLS WYLQKPGQPPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSTDF TLKISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 142
61255 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSDATGGWGQGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK	SEQ ID NO: 143

	SRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
61255 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGHTYLS WYLQKPGQPPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 144
60140 CDR- H1	YTFTSVWIH	SEQ ID NO: 145
60140 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 146
60140 CDR- H3	ASSRPTGG	SEQ ID NO: 147
60140 CDR- L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 148
60140 CDR- L2	QMSNLAS	SEQ ID NO: 149
60140 CDR- L3	AQNLELPLT	SEQ ID NO: 150
60140 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSVWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSRPTGGWGQGT VTVSS	SEQ ID NO: 151
60140 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 152
60140 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 153
60140 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 154

60140 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSVWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSRPTGGWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 155
60140 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 156
60143 CDR- H1	YTFTSTWIH	SEQ ID NO: 157
60143 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 158
60143 CDR- H3	ASSKPTGG	SEQ ID NO: 159
60143 CDR- L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 160
60143 CDR- L2	QMSNLAS	SEQ ID NO: 161
60143 CDR- L3	AQNLELPLT	SEQ ID NO: 162
60143 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSTWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSKPTGGWGQGT VTVSS	SEQ ID NO: 163
60143 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH	SEQ ID NO: 164

	EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
60143 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 165
60143 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 166
60143 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSTWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSKPTGGWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 167
60143 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADY EEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 168
61264 CDR- H1	YTFTSTWIH	SEQ ID NO: 169
61264 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKQFVG	SEQ ID NO: 170
61264 CDR- H3	ASSLPTGG	SEQ ID NO: 171
61264 CDR- L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 172

61264 CDR-L2	QMSNLAS	SEQ ID NO: 173
61264 CDR-L3	AQQLELPLT	SEQ ID NO: 174
61264 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSTWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFVGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSLPTGGWGQGT VTVSS	SEQ ID NO: 175
61264 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 176
61264 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 177
61264 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQQLELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 178
61264 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSTWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFVGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSLPTGGWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 179
61264	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW	SEQ ID NO:

VL+CL	YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQQLELPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	180
60130 CDR-H1	YTFTSVWIH	SEQ ID NO: 181
60130 CDR-H2	LIDPSDSYTNYNQKFR	SEQ ID NO: 182
60130 CDR-H3	ASSQPTGG	SEQ ID NO: 183
60130 CDR-L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 184
60130 CDR-L2	QMSNLAG	SEQ ID NO: 185
60130 CDR-L3	AQNLELPLT	SEQ ID NO: 186
60130 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSVWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSQPTGGWGQGT VTVSS	SEQ ID NO: 187
60130 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 188
60130 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTK ADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 189
60130 VL	DIVMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 190
60130 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSVWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD	SEQ ID NO: 191

	TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSQPTGGWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
60130 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 192
61286 CDR- H1	YTFTSTWIH	SEQ ID NO: 193
61286 CDR- H2	LIDPSDSYTNYNQKFR	SEQ ID NO: 194
61286 CDR- H3	ASSDLTGG	SEQ ID NO: 195
61286 CDR- L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 196
61286 CDR- L2	QMSNLAG	SEQ ID NO: 197
61286 CDR- L3	AQALELPLT	SEQ ID NO: 198
61286 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSTWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSDLTGGWGQGT TDTVSS	SEQ ID NO: 199
61286 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG	SEQ ID NO: 200

	QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
61286 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLK KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 201
61286 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAAGVPDRFSGSGSGTDFSL KISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 202
61286 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSTWIHW VRQAPGQGLEWMGLIDPSDYSYTNYNQKFRGRVTMTV DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSDLTGGWGQGT TVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVIV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 203
61286 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAAGVPDRFSGSGSGTDFSL KISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADY EEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 204
61259 CDR- H1	YRFTSYWIH	SEQ ID NO: 205
61259 CDR- H2	LIDPSDYSYTNYNQKFRG	SEQ ID NO: 206
61259 CDR- H3	ASSDATGG	SEQ ID NO: 207
61259 CDR- L1	VSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 208
61259 CDR- L2	QMSNLGS	SEQ ID NO: 209
61259 CDR-	AQALELPLT	SEQ ID NO:

L3		210
61259 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFTSYWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSDATGGWGQGTT VTVSS	SEQ ID NO: 211
61259 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 212
61259 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTL KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 213
61259 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCVSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLGSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 214
61259 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFTSYWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSDATGGWGQGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 215
61259 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCVSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLGSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQALELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 216

	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
60136 CDR-H1	YHTTSYWIH	SEQ ID NO: 217
60136 CDR-H2	LIDPSDSYTNYNQKFR	SEQ ID NO: 218
60136 CDR-H3	ASSRPTGG	SEQ ID NO: 219
60136 CDR-L1	RSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 220
60136 CDR-L2	QMSNLAS	SEQ ID NO: 221
60136 CDR-L3	AQNLELPLT	SEQ ID NO: 222
60136 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTHTSYWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSRPTGGWGQGT VTVSS	SEQ ID NO: 223
60136 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPG	SEQ ID NO: 224
60136 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 225
60136 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGKVEIK	SEQ ID NO: 226
60136 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTHTSYWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSRPTGGWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF	SEQ ID NO: 227

	PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
60136 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHSSGITYLSWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 228
61267 CDR-H1	YTFTEYWIH	SEQ ID NO: 229
61267 CDR-H2	LIDPSDSYTNYNQRF	SEQ ID NO: 230
61267 CDR-H3	ASSDATGG	SEQ ID NO: 231
61267 CDR-L1	HSSKSLHSSGITYLS	SEQ ID NO: 232
61267 CDR-L2	QMSNLAS	SEQ ID NO: 233
61267 CDR-L3	AQSLELPLT	SEQ ID NO: 234
61267 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKASCKASGYTFTEYWIHWVRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQRFGRATLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSDATGGWGQGTFTVSS	SEQ ID NO: 235
61267 CH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR	SEQ ID NO: 236

	WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
61267 CL	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 237
61267 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCHSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQSLELPLTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 238
61267 VH+CH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKASCKASGYTFTEYWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQRFRGRATLTVD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSDATGGWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSQGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 239
61267 VL+CL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCHSSKSLHSSGITYLSW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLAGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQSLELPLTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 240
Фибрин человека γ377-395 (Пептид P2 человека)	YSMKKTTMKIIPFNRLTIG	SEQ ID NO: 241
60143 Легкая цепь	ATGACTAGGCTGACCGTGCTGGCCCTGCTTGCCGGA CTCTTGGCCTCCTCGAGAGCGGATATTGTGATGACT CAGAGCCCACTCTCCCTGCCCGTGACTCCTGGGGAA CCCGCCTCGATCAGCTGTAGATCGTCCAAGTCACTT CTCCACTCGTCCGGGATCACCTACCTGTCGTGGTATT TGCAAAAGCCAGGACAGAGCCCGCAGCTCCTCATCT	SEQ ID NO: 242

	ACCAAATGAGCAACCTGGCTTCCGGTGTCCCGGATC GGTTCTCGGGGTCCGGATCTGGCACCGACTTCACGC TGAAAATTTCCCGCGTGGAAGCCGAGGACGTGGGA GTGTACTACTGCGCACAAAACCTGGAACCTGCCCTG ACCTTCGGTGGCGGCACTAAGGTCGAAATCAAGCGG ACCGTGGCAGCTCCGTCCGTGTTTCATCTTCCCGCCTT CCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGAACCGCCTCCGTGCG TGTGCCTGCTCAACAACCTTTTACCCTCGCGAGGCCA AGGTCCAGTGGAAGGTCGATAACGCGCTGCAGAGC GGAAATAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACTC CAAGGACTCAACCTACTCACTGAGCTCCACTCTGAC CCTGTCAAAGGCGGACTACGAGAAGCACAAAGTGT ACGCCTGCGAAGTGACACATCAGGGCCTGTCCAGTC CCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAATGCTAG	
60143 Тяжелая цепь	ATGACCCGGCTGACCGTGCTGGCCCTCCTGGCTGGA CTGCTGGCCTCCTCAAGAGCCCAGGTCCAGCTGGTG CAATCCGGCGCCGAAGTCAAGAAGCCAGGCGCAAG CGTCAAAGTGTCATGCAAAGCCTCCGGATACACCTT CACCTCCACCTGGATTCACTGGGTGACAGGCCCC CGGTCAAGGACTGGAATGGATCGGGCTGATCGACCC GTCGGACTCGTACACCAACTACAATCAGAAGTTTCG CGGTCCGGCTACTCTCACTGTGGATACCTCGACCTC CACCGCTTACATGGAAGTGTATCGCTGCGGTCCGA GGATAACCGCGTGTACTATTGCGCGTCCTCCAAGCC GACTGGCGGATGGGGACAGGGAAGTACTGTGACGG TGTCTCCGCTCGACCAAGGGCCCCTCCGTGTTTCC ACTGGCCCCCTCATCCAAGTCTACCAGCGGAGGAAC CGCAGCCCTAGGCTGTCTCGTGAAGGACTACTTCCC CGAGCCGGTCACTGTCTCCTGGAACCTCGGGAGCCCT CACTAGCGGTGTCCACACTTTCCCGGCGGTGTTGCA AAGCTCCGGGCTGTACTCCCTGTCTCGGTGTCAC CGTGCCGTCAAGCTCCCTCGGGACCCAGACATACAT CTGTAACGTCAACCATAAGCCATCCAACACCAAAGT GGACAAGAAAGTGGAGCCGAAAAGCTGCGACAAGA CTCACACTTGCCCTCCTTGCCCTGCACCCGAGCTTCT	SEQ ID NO: 243

	<p>CGGAGGTCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCGCCGAAGCC CAAGGACACTCTGATGATTAGCCGCACTCCTGAGGT CACCTGTGTCGTGGTGGACGTGTCCCATGAGGACCC TGAAGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGA GGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCGAGGGAGGAGC AGTACAACCTCGACCTATCGCGTGGTGTCCGTGCTCA CCGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGGAAGGAGT ATAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCTTTGCCGGCCC CTATCGAAAAGACCATTAGCAAGGCCAAGGGGCAG CCAAGGGAGCCTCAAGTGTACACCCTGCCGCCTTCG AGAGATGAACTGACCAAGAACCAAGTGTCCCTCAC GTGCCTCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGC GGTGAATGGGAATCCAACGGACAGCCCGAAAACA ACTACAAGACCACCCTCCGGTGCTTGATAGCGACG GCTCGTTCTTCTGTACTCGAAGCTGACAGTGGACA AGTCACGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCATGCT CCGTGATGCACGAAGCGTTGCACAATCACTACACCC AGAAGTCGCTTAGCCTGAGCCCTGGATAG</p>	
<p>60143- A234LA235 L Легкая цепь</p>	<p>ATGACTAGGCTGACCGTGCTGGCCCTGCTTGCCGGA CTCTTGGCCTCCTCGAGAGCGGATATTGTGATGACT CAGAGCCCCTCTCCCTGCCCGTGACTCCTGGGGAA CCCGCCTCGATCAGCTGTAGATCGTCCAAGTCACTT CTCCACTCGTCCGGGATCACCTACCTGTCGTGGTATT TGCAAAGCCAGGACAGAGCCCGCAGCTCCTCATCT ACCAAATGAGCAACCTGGCTTCCGGTGTCCCGGATC GGTTCTCGGGGTCCGGATCTGGCACCGACTTCACGC TGAAAATTTCCCGCGTGGAAGCCGAGGACGTGGGA GTGTACTACTGCGCACAAAACCTGGAAGTGGCCCTG ACCTTCGGTGGCGGCACTAAGGTCGAAATCAAGCGG ACCGTGGCAGCTCCGTCCGTGTTTCATCTTCCCGCCTT CCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGAACCGCCTCCGTCCG TGTGCCTGCTCAACAACCTTTACCCTCGCGAGGCCA AGGTCCAGTGGAAGGTCGATAACGCGCTGCAGAGC GGAAATAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACTC CAAGGACTCAACCTACTCACTGAGCTCCACTCTGAC</p>	<p>SEQ ID NO: 244</p>

	CCTGTCAAAGGCGGACTACGAGAAGCACAAAGTGT ACGCCTGCGAAGTGACACATCAGGGCCTGTCCAGTC CCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAATGCTAG	
60143- A234LA235 L Тяжелая цепь	ATGACCCGGCTGACCGTGCTGGCCCTCCTGGCTGGA CTGCTGGCCTCCTCAAGAGCCCAGGTCCAGCTGGTG CAATCCGGCGCCGAAGTCAAGAAGCCAGGCGCAAG CGTGAAAGTGTCATGCAAAGCCTCCGGATACACCTT CACCTCCACCTGGATTCACTGGGTGACAGGCCCC CGGTCAAGGACTGGAATGGATCGGGCTGATCGACCC GTCGGACTCGTACACCAACTACAATCAGAAGTTTCG CGGTCGGGCTACTCTCACTGTGGATACCTCGACCTC CACCGCTTACATGGAAGTGTATCGCTGCGGTCCGA GGATACCGCCGTGTACTATTGCGCGTCCTCCAAGCC GACTGGCGGATGGGGACAGGGAAGTACTGTGACGG TGTCTCCGCTCGACCAAGGGCCCTCCGTGTTTC ACTGGCCCCCTCATCCAAGTCTACCAGCGGAGGAAC CGCAGCCCTAGGCTGTCTCGTGAAGGACTACTTCCC CGAGCCGGTCACTGTCTCCTGGAAGTCCGGGAGCCCT CACTAGCGGTGTCCACACTTTCCTCCGGCGGTGTTGCA AAGTCCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCGGTCGTCAC CGTGCCGTCAAGCTCCCTCGGGACCCAGACATACAT CTGTAACGTCAACCATAAGCCATCCAACACCAAAGT GGACAAGAAAGTGGAGCCGAAAAGCTGCGACAAGA CTCACACTTGCCCTCCTTGCCCTGCACCCGAGGCAG CAGGAGGTCCCAGCGTGTTCCTGTTCCCGCCGAAGC CCAAGGACACTCTGATGATTAGCCGCACTCCTGAGG TCACCTGTGTCGTGGTGGACGTGTCCCATGAGGACC CTGAAGTCAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCGAGGGAGGAG CAGTACAACCTCGACCTATCGCGTGGTGTCCGTGCTC ACCGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGGAAGGA GTATAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCTTTGCCGGC CCCTATCGAAAAGACCATTAGCAAGGCCAAGGGGC AGCCAAGGGAGCCTCAAGTGTACACCCTGCCGCCTT CGAGAGATGAACTGACCAAGAACCAAGTGTCCCTC	SEQ ID NO: 245

	ACGTGCCTCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATC GCGGTGGAATGGGAATCCAACGGACAGCCCGAAAA CAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGCTTGATAGCGA CGGCTCGTTCTTCTGTACTCGAAGCTGACAGTGGA CAAGTCACGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCATG CTCCGTGATGCACGAAGCGTTGCACAATCACTACAC CCAGAAGTCGCTTAGCCTGAGCCCTGGATAG	
5B8 Тяжелая цепь	QVQLQPPGAELVRPGTSVKLSCKASGYTFTSYWIHWV KQRPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGKATLTVDT SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCASSDPTGCWGGQTTL TVSSAKTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTSGCLVKGYFP EPVTVTWNSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPS STWPSQTVTCSVAHPASSTTVDKKLEPSGPISTINPCPP CKECHKCPAPNLEGGPSVFIFPPNIKDVLMISLTPKVTC VVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHTAQTQTHREDYN STIRVVSTLPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTI SKIKGLVRAPQVYTLPPPAEQLSRKDVSLTCLVVGFPN GDISVEWTSNGHTEENYKDTAPVLDSGYSYFIYSKLN MKTSKWEKTDSFSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPGK	SEQ ID NO: 246
5B8 Легкая цепь	RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKSTSTSPIVKSFNRNECDIVMTQA AFSNPITLGTASAMSCRSSKSLHSSGITYLSWYLQKPG QSPQLLIYQMSNLAGVPDFRFSVSSGSGTDFTLRISRVEA EDVGVVYYCAQNLELPLTFGAGTKLELK	SEQ ID NO: 246
THN227 Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTSYWIHW VRQAPGQGLEWIGLIDPSDSYTNYNQKFRGRVTITRDT STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSDPTGGWGQGTTV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI	SEQ ID NO: 247

	AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
THN227 Легкая цепь	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECDIVMT QAAFSNPVTPGTPASISCRSSKSLHSSGITYLSWYLQK PGQSPQLLIYQMSNLAGVDPDRFSSSGSGTDFTLKISRV EAEDVGVVYYCAQNLELPLTFGQGTKLEIK	SEQ ID NO: 248
Пептид P2 мышь/ крысы	YSMKETTMKIIPFNRLSIG	SEQ ID NO: 249
Пептид P2 кролика	YSMKKTTMKIPLNRLSIG	SEQ ID NO: 250
Удлиненный пептид P2 человека	TTMKIIPFNRLTIGEGQQHHLGGAKQVRP	SEQ ID NO: 251
Удлиненный пептид P2 крысы	TTMKIIPFNRLSIGDGQQHNMGGSKQVSV	SEQ ID NO: 252
Удлиненный пептид P2 кролика	TTMKIPLNRLSIGEGQQFHVGGAKQVRP	SEQ ID NO: 253

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело, которое связывает домен γ C фибрина или фибриногена человека, содержащее тяжелую цепь, содержащую последовательность варибельной области тяжелой цепи (VH), содержащую три последовательности CDR тяжелой цепи, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, и легкую цепь, содержащую последовательность варибельной области легкой цепи (VL), содержащую три последовательности CDR легкой цепи, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, где:

a. CDR-H1 содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1, 13, 25, 37, 49, 61, 73, 85, 97, 109, 121, 133, 145, 157, 169, 181, 193, 205, 217 или 229;

b. CDR-H2 содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2, 14, 26, 38, 50, 62, 74, 86, 98, 110, 122, 134, 146, 158, 170, 182, 194, 206, 218 или 230;

c. CDR-H3 содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3, 15, 27, 39, 51, 63, 75, 87, 99, 111, 123, 135, 147, 159, 171, 183, 195, 207, 219 или 231;

d. CDR-L1 содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4, 16, 28, 40, 52, 64, 76, 88, 100, 112, 124, 136, 148, 160, 172, 184, 196, 208, 220 или 232;

e. CDR-L2 содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5, 17, 29, 41, 53, 65, 77, 89, 101, 113, 125, 137, 149, 161, 173, 185, 197, 209, 221 или 233; и

f. CDR-L3 содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 6, 18, 30, 42, 54, 66, 78, 90, 102, 114, 126, 138, 150, 162, 174, 186, 198, 210, 222. или 234.

2. Выделенное антитело по п.1, где антитело содержит последовательность VH, выбранную из последовательности, представленной в одной из SEQ ID NO: 7, 19, 31, 43, 55, 67, 79, 91, 103, 115, 127, 139, 151, 163, 175, 187, 199, 211, 223 или 235.

3. Выделенное антитело по п. 1 или 2, где антитело содержит последовательность VL, выбранную из последовательности, представленной в SEQ ID NO 10, 22, 34, 46, 58, 70, 82, 94, 106, 118, 130, 142, 154, 166, 178, 190, 202, 214, 226 или 238.

4. Выделенное антитело по любому из вышеуказанных пунктов, где антитело содержит последовательность VH, выбранную из последовательности, представленной в SEQ ID NO: 7, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 10.

5. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 19, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 22.

6. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 31, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 34.

7. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 43, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 46.

8. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 55, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 58.

содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 223, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 226.

23. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 235, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 238.

24. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело представляет собой гуманизированное, человеческое или химерное антитело.

25. Выделенное антитело по п.24, где антитело представляет собой гуманизированное антитело.

26. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит константную область тяжелой цепи человека класса, выбранного из IgG, IgA, IgD, IgE и IgM.

27. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, в котором область Fc человека содержит константную область тяжелой цепи человека класса IgG и подкласса, выбранного из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

28. Выделенное антитело по п.27, в котором область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

29. Выделенное антитело по п.28, в котором домен Fc человека содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 8, 20, 32, 44, 56, 68, 80, 92, 104, 116, 128, 140, 152, 164, 176, 188, 200, 212, 224 или 236.

30. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, в котором тяжелая цепь содержит последовательность константной области тяжелой цепи, представленную SEQ ID NO: 8, 20, 32, 44, 56, 68, 80, 92, 104, 116, 128, 140, 152, 164, 176, 188, 200, 212, 224 или 236.

31. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, в котором легкая цепь содержит последовательность константной области легкой цепи, представленную SEQ ID NO: 9, 21, 33, 45, 57, 69, 81, 93, 105, 117, 129, 141, 153, 165, 177, 189, 201, 213, 225 или 237.

32. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 7, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 10; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

33. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 19, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 22; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

34. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 31, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 34; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

35. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело

содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 163, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 166; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

46. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 175, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 178; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

47. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 187, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 190; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

48. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 199, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 202; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

49. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 211, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 214; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

50. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 223, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 226; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

51. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 235, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 238; а область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

52. Выделенное антитело по любому из пп.27-51, в котором область Fc содержит одну или несколько аминокислотных замен, где одна или несколько замен приводят к увеличению периода полувыведения антитела, увеличению активности ADCC, увеличению активности ADCP или увеличению активности CDC по сравнению с Fc без одной или нескольких замен.

53. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, в котором область Fc связывает рецептор Fc γ , выбранный из группы, состоящей из: Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa и Fc γ RIIIb.

54. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело представляет собой моноклональное антитело.

55. Антитело по п. 1, где антитело связывает эпитоп γ 377-395 домена γ C фибрина или фибриногена.

56. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело

связывается с пептидом, содержащим аминокислотную последовательность, представленную по меньшей мере в одной из SEQ ID NO: 241 и 249-253, с K_D менее или равной приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8×10^{-5} М, при измерении методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с кинетикой единственного цикла (SCK).

57. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело связывается с пептидом, содержащим последовательность эпитопа $\gamma 377-395$ домена γC фибрина или фибриногена человека с K_D менее или равной приблизительно 8×10^{-5} М, при измерении методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с кинетикой единственного цикла (SCK).

58. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело ингибирует связывание Мас-1 с доменом γC фибрина или фибриногена.

59. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело демонстрирует ингибирование адгезии микроглии к домену γC фибрина или фибриногена.

60. Выделенное антитело по любому из предыдущих пунктов для применения при лечении дегенеративного заболевания нервной системы.

61. Выделенный полинуклеотид или набор полинуклеотидов, кодирующих антитело по любому из предыдущих пунктов, его VH, его VL, его легкую цепь, его тяжелую цепь или его антигенсвязывающую часть; необязательно кДНК.

62. Вектор или набор векторов, содержащих полинуклеотид или набор полинуклеотидов по п. 61.

63. Клетка-хозяин, содержащая полинуклеотид или набор полинуклеотидов по п. 61 или вектор или набор векторов по п. 62.

64. Способ получения антител, включающий экспрессию антитела клеткой-хозяином по п.63 и выделение экспрессированного антитела.

65. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп. 1-60 и фармацевтически приемлемое вспомогательное средство.

66. Набор, содержащий антитело по любому из пп. 1-60 или фармацевтическую композицию по п. 65 и инструкции по применению.

67. Способ лечения дегенеративного заболевания нервной системы, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител по любому из пп. 1-60 или фармацевтической композиции по п. 65.

68. Способ по п.67, в котором дегенеративное заболевание нервной системы выбирают из группы, состоящей из: рассеянного склероза, травмы спинного мозга, инсульта и болезни Альцгеймера.

69. Способ лечения патологии, связанной со связыванием Мас-1 с фибрином или связыванием Мас-1 с фибриногеном, при этом способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител по любому из пп. 1-60 или фармацевтической композиции. по п.65.

70. Способ ингибирования активации микроглии, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител по любому из пп. 1-60

или фармацевтической композиции по п. 65.

71. Способ предотвращения дегенеративного заболевания нервной системы, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител по любому из пп. 1-60 или фармацевтической композиции по п. 65.

72. Способ лечения колита у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител по любому из пп. 1-60 или фармацевтической композиции по п. 65.

73. Способ профилактики колита у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител по любому из пп. 1-60 или фармацевтической композиции по п.65.

74. Выделенное антитело, которое связывает домен γ C фибрина или фибриногена человека, где антитело связывает фибрин человека по любому из аминокислотных остатков Lys 411, Ile 412, Ile 413, Phe 415, Asn 416, Arg 417, Leu 418, Thr 419, Ile 420 и Gly 421.

75. Выделенное антитело по п.74, где антитело связывает фибрина человека по меньшей мере с двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью, семью, восемью, девятью или всеми десятью аминокислотными остатками Lys 411, Ile 412, Ile 413, Phe 415, Asn 416, Arg 417, Leu 418, Thr 419, Ile 420 и Gly 421.

76. Выделенное антитело по пп. 74 или 75, где антитело содержит область VH, содержащую паратоп, который содержит любой из аминокислотных остатков Ser 31, Tyr 32, Trp 33, His 35, Trp 47, Leu 50, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ala 93, Ser 94, Ser 95, Lys 96 или Asp 96, Pro 97 или Ala 97, Gly 101, Gly102 и Trp 103.

77. Выделенное антитело по п.76, где антитело содержит область VH, содержащую паратоп, который содержит по меньшей мере два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать или все семнадцать аминокислотных остатков Ser 31, Tyr 32, Trp 33, His 35, Trp 47, Leu 50, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ala 93, Ser 94, Ser 95, Lys 96 или Asp 96, Pro 97 или Ala 97, Gly 101, Gly102 и Trp 103.

78. Выделенное антитело по п.77, где антитело содержит область VH, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки Ser 31, Trp 33, His 35, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ser 94, Gly 101, Gly 102 и Trp 103.

79. Выделенное антитело по п.78, где антитело содержит область VH, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки Ser 31, Trp 33, His 35, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ala 93, Ser 94, Lys 96, Pro 97, Gly 101, Gly102 и Trp 103.

80. Выделенное антитело по п.78, где антитело содержит область VH, содержащую паратоп, содержащий аминокислотные остатки Ser 31, Tyr 32, Trp 33, His 35, Trp 47, Asp 52, Asp 54, Tyr 56, Ser 94, Ser 95, Asp 96, Ala 97, Gly 101, Gly102 и Trp 103.

81. Выделенное антитело по любому из пп. 74-80, где антитело содержит область VL, содержащую паратоп, который содержит любой из аминокислотных остатков His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Tyr 49, Gln 50, Ala 91 или Asn 91, Leu 92, Leu 94 и Leu 96.

82. Выделенное антитело по п. 81, где антитело содержит область VL, содержащую

паратоп, который содержит по меньшей мере два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или все десять аминокислотных остатков His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Tyr 49, Gln 50, Ala 91 или Asn 91, Leu 92, Leu 94 и Leu 96.

83. Выделенное антитело по п.82, где антитело содержит область VL, содержащую паратоп, содержащий аминокислотные остатки His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Gln 50, Leu 92, Leu 94 и Leu 96.

84. Выделенное антитело по п.83, где антитело содержит область VL, содержащую паратоп, который содержит аминокислотные остатки His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Gln 50, Asn 91, Leu 92, Leu 94 и Leu 96.

85. Выделенное антитело по п.83, где антитело содержит область VL, содержащую паратоп, содержащий аминокислотные остатки His 27, Tyr 32, Tyr 36, Leu 46, Tyr 49, Gln 50, Ala 91, Leu 92, Leu 94 и Leu 96.

86. Выделенное антитело по любому из пп.74-85, где антитело представляет собой гуманизированное, человеческое или химерное антитело.

87. Выделенное антитело по п.86, где антитело представляет собой гуманизированное антитело.

88. Выделенное антитело по любому из пп.74-87, где антитело содержит константную область тяжелой цепи человека класса, выбранного из IgG, IgA, IgD, IgE и IgM.

89. Выделенное антитело по любому из пп.74-88, в котором область Fc человека содержит константную область тяжелой цепи человека класса IgG и подкласса, выбранного из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

90. Выделенное антитело по п.89, в котором область Fc человека содержит Fc человеческого IgG1 дикого типа.

91. Выделенное антитело по п. 88, в котором домен Fc человека содержит последовательность, представленную в SEQ ID NO: 8, 20, 32, 44, 56, 68, 80, 92, 104, 116, 128, 140, 152, 164, 176, 188, 200, 212, 224 или 236.

92. Выделенное антитело по любому из пп. 74-91, в котором область Fc содержит одну или несколько аминокислотных замен, где одна или несколько замен приводят к увеличению периода полувыведения антитела, увеличению активности ADCC, увеличению активности ADCP или увеличению активности CDC по сравнению с Fc без одной или нескольких замен.

93. Выделенное антитело по любому из пп. 74-92, в котором область Fc связывает рецептор Fcγ, выбранный из группы, состоящей из: FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa и FcγRIIIb.

94. Выделенное антитело по любому из пп.74-93, где антитело представляет собой моноклональное антитело.

95. Выделенное антитело по любому из пп. 74-94, где антитело связывается с пептидом, содержащим аминокислотную последовательность, представленную по меньшей мере в одной из SEQ ID NO: 241 и 249-253, с KD менее или равной приблизительно

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8×10^{-5} М, при измерении методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с кинетикой единственного цикла (SCK).

96. Выделенное антитело по любому из пп.74-95, где антитело связывается с пептидом, содержащим последовательность эпитопа $\gamma 377-395$ домена γC фибрина или фибриногена человека с K_D менее или равной приблизительно 8×10^{-5} М, при измерении способом поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с кинетикой единственного цикла (SCK).

97. Выделенное антитело по любому из пп. 74-96, где антитело ингибирует связывание Mac-1 с доменом γC фибрина или фибриногена.

98. Выделенное антитело по любому из пп.74-97, где антитело демонстрирует ингибирование адгезии микроглии к домену γC фибрина или фибриногена.

99. Выделенное антитело по любому из пп.74-98 для применения при лечении дегенеративного заболевания нервной системы.

100. Выделенное антитело по любому из пп.74-98 для применения при лечении состояния, связанного с воспалением глаза.

101. Выделенное антитело по п.100, в котором состоянием является увеит.

102. Выделенный полинуклеотид или набор полинуклеотидов, кодирующих антитело по любому из пп.74-101, его VH, его VL, его легкую цепь, его тяжелую цепь или его антигенсвязывающую часть; необязательно кДНК.

103. Вектор или набор векторов, содержащих полинуклеотид или набор полинуклеотидов по п. 102.

104. Клетка-хозяин, содержащая полинуклеотид или набор полинуклеотидов по п. 61 или вектор или набор векторов по п. 103.

105. Способ получения антител, включающий экспрессию антитела клеткой-хозяином по п. 104 и выделение экспрессированного антитела.

106. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп. 74-101 и фармацевтически приемлемое вспомогательное средство.

107. Набор, содержащий антитело по любому из пп. 74-101 или фармацевтическую композицию по п. 106 и инструкции по применению.

108. Способ лечения дегенеративного заболевания нервной системы, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител по любому из пп. 74-101 или фармацевтической композиции по п. 106.

109. Способ по п.108, в котором дегенеративное заболевание нервной системы выбирают из группы, состоящей из: рассеянного склероза, травмы спинного мозга, инсульта и болезни Альцгеймера.

110. Способ лечения патологии, связанной со связыванием Mac-1 с фибрином или связыванием Mac-1 с фибриногеном, при этом способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител по любому из пп. 74-101 или фармацевтической композиции по п. 106.

111. Способ ингибирования активации микроглии, включающий введение

млекопитающему терапевтически эффективного количества антител по любому из пп. 74-101 или фармацевтической композиции по п. 106.

112. Способ предотвращения дегенеративного заболевания нервной системы, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител по любому из пп. 74-101 или фармацевтической композиции по п. 106.

113. Способ лечения колита у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител по любому из пп. 74-101 или фармацевтической композиции по п. 106.

114. Способ профилактики колита у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антител по любому из пп. 74-101 или фармацевтической композиции по п. 106.

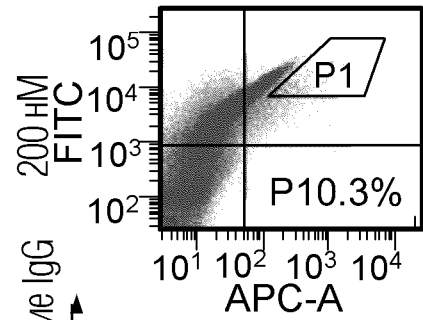
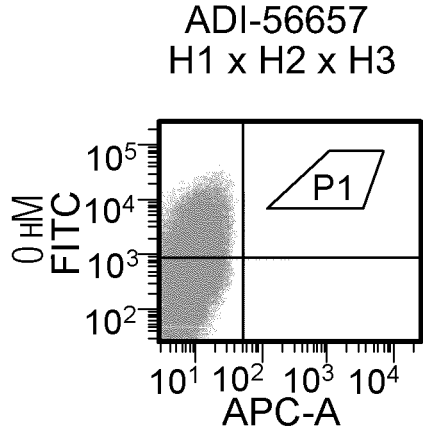
115. Способ лечения воспалительного заболевания глаза у нуждающегося в этом субъекта включающий введение субъекту антитела по любому из пп. 1-60 или 74-101 или фармацевтической композиции по пп. 65 или 106.

116. Способ предотвращения воспалительного заболевания глаза у нуждающегося в этом субъекта включающий введение субъекту антитела по любому из пп. 1-60 или 74-101 или фармацевтической композиции по пп. 65 или 106.

117. Способ по п. 115 или п. 116, в котором воспалительное состояние глаза включает увеит.

По доверенности

Цикл 1



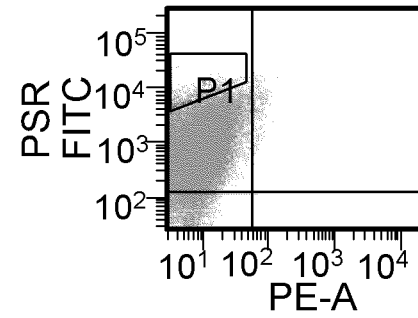
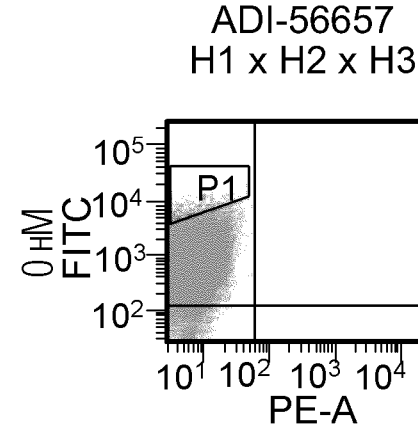
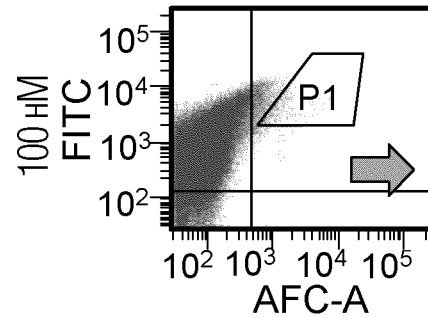
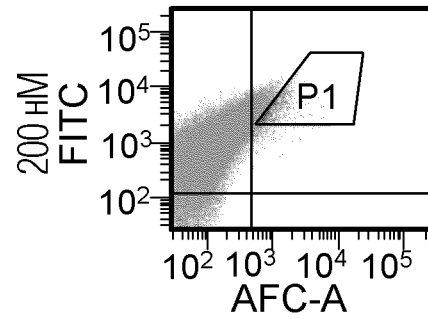
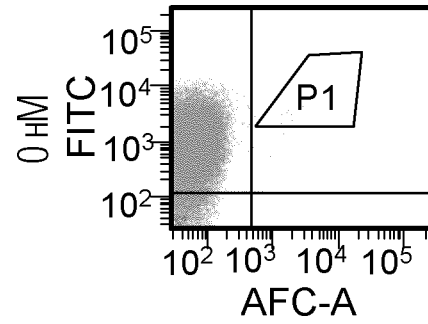
Представление IgG
↑

Исходная библиотека
→

Связывание Ag

Цикл 2

ADI-56657
H1 x H2 x H3

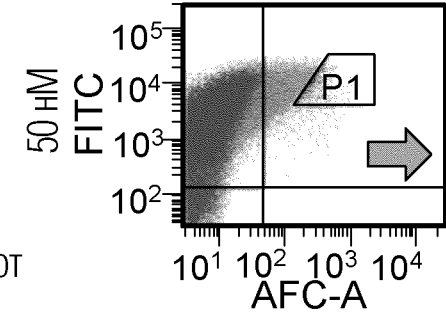
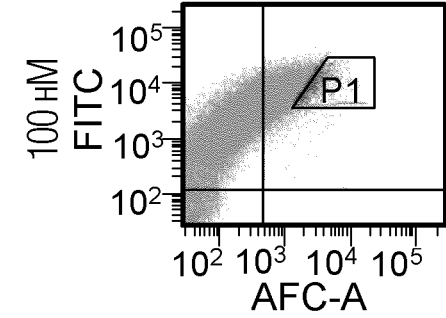
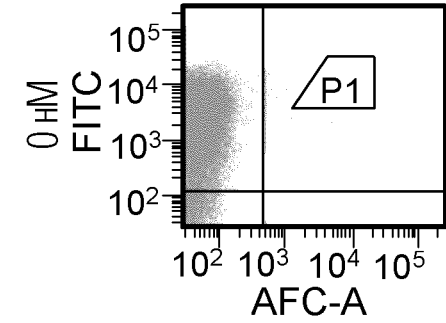


2 цикл. Популяции являются чистыми в отношении реагента полиспецифичности и не связывают рандомизированный пептид

ФИГ. 1

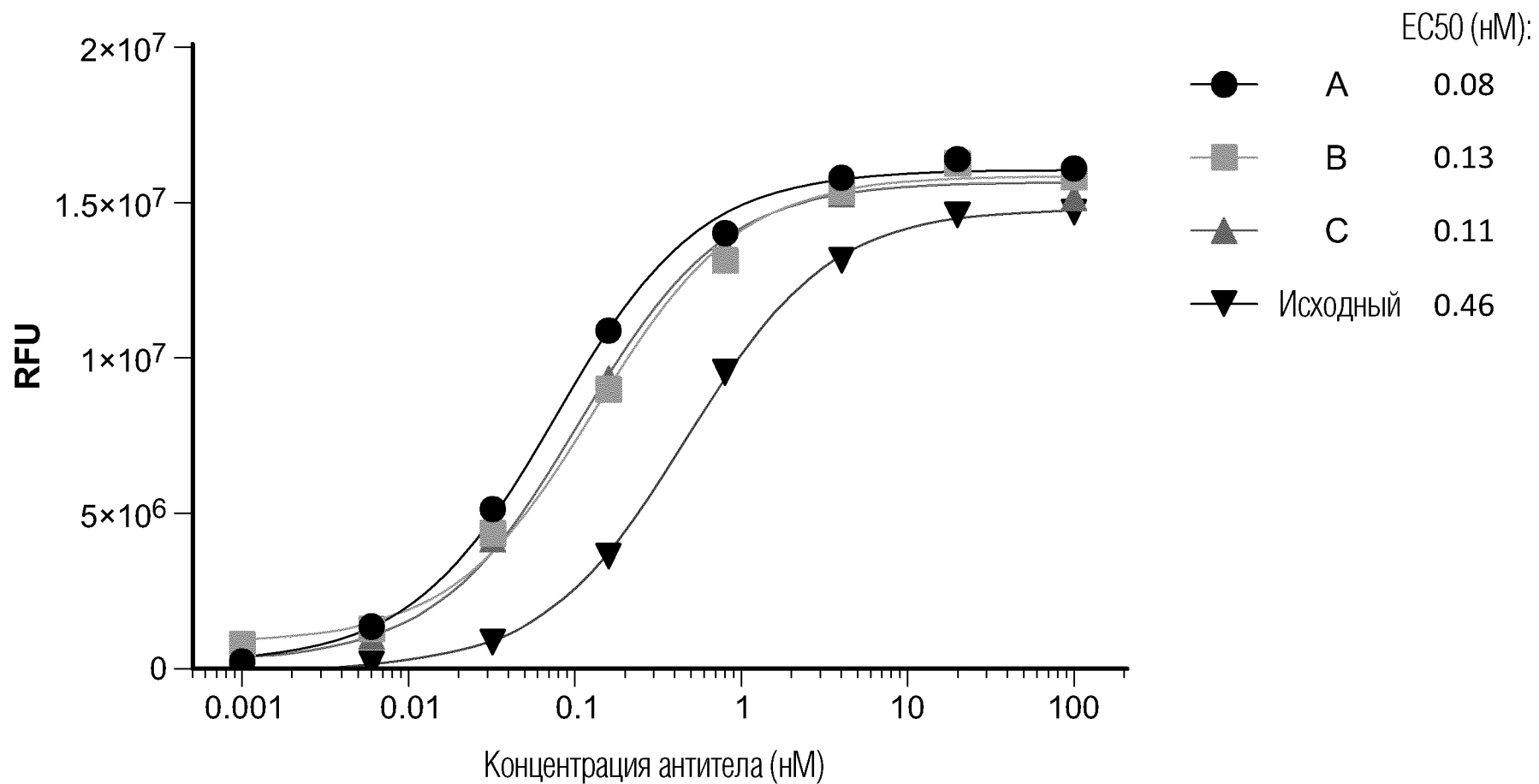
Цикл 3

ADI-56657
H1 x H2 x H3



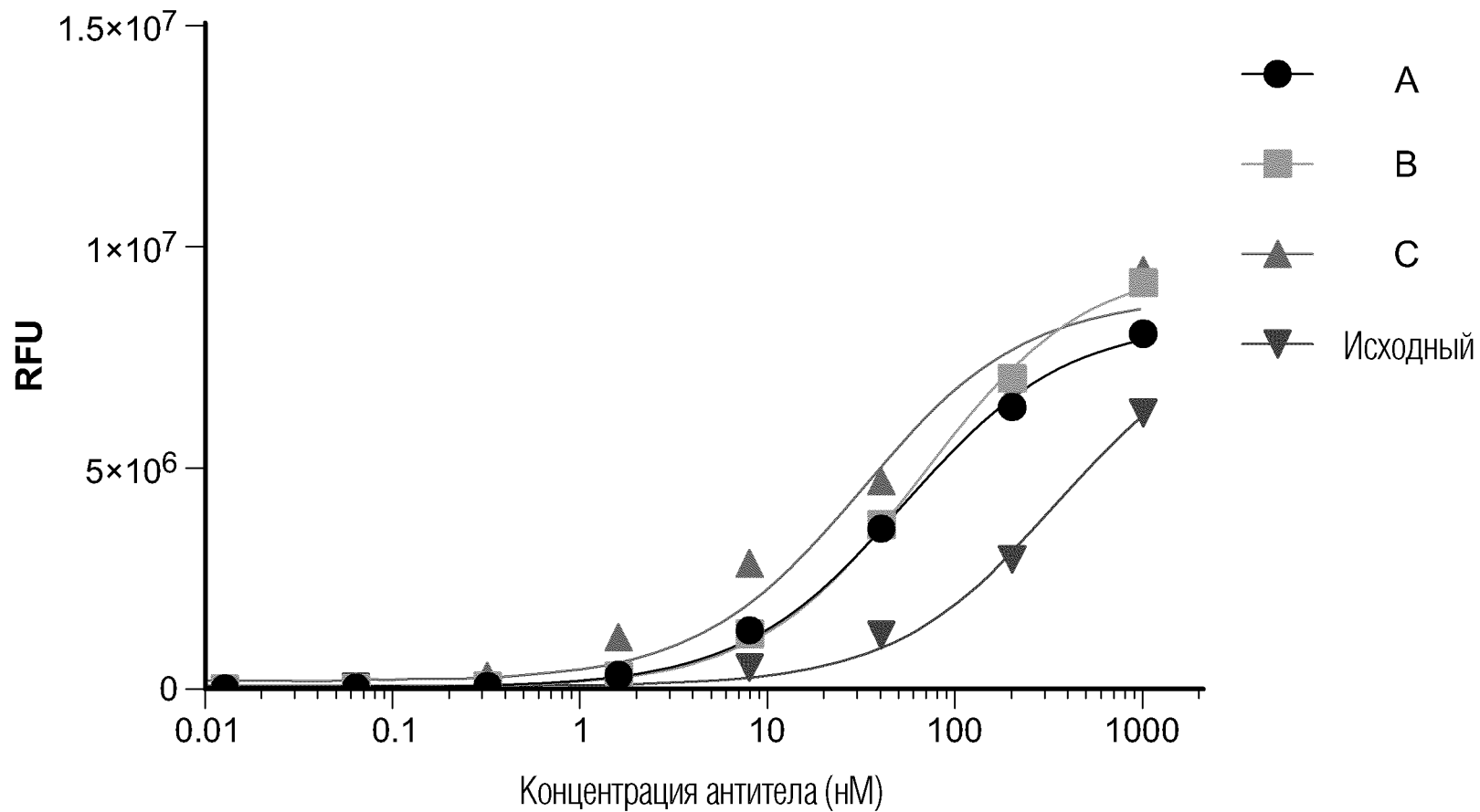
3 цикл. Популяции не связывают фибриноген

N-P2 ELISA



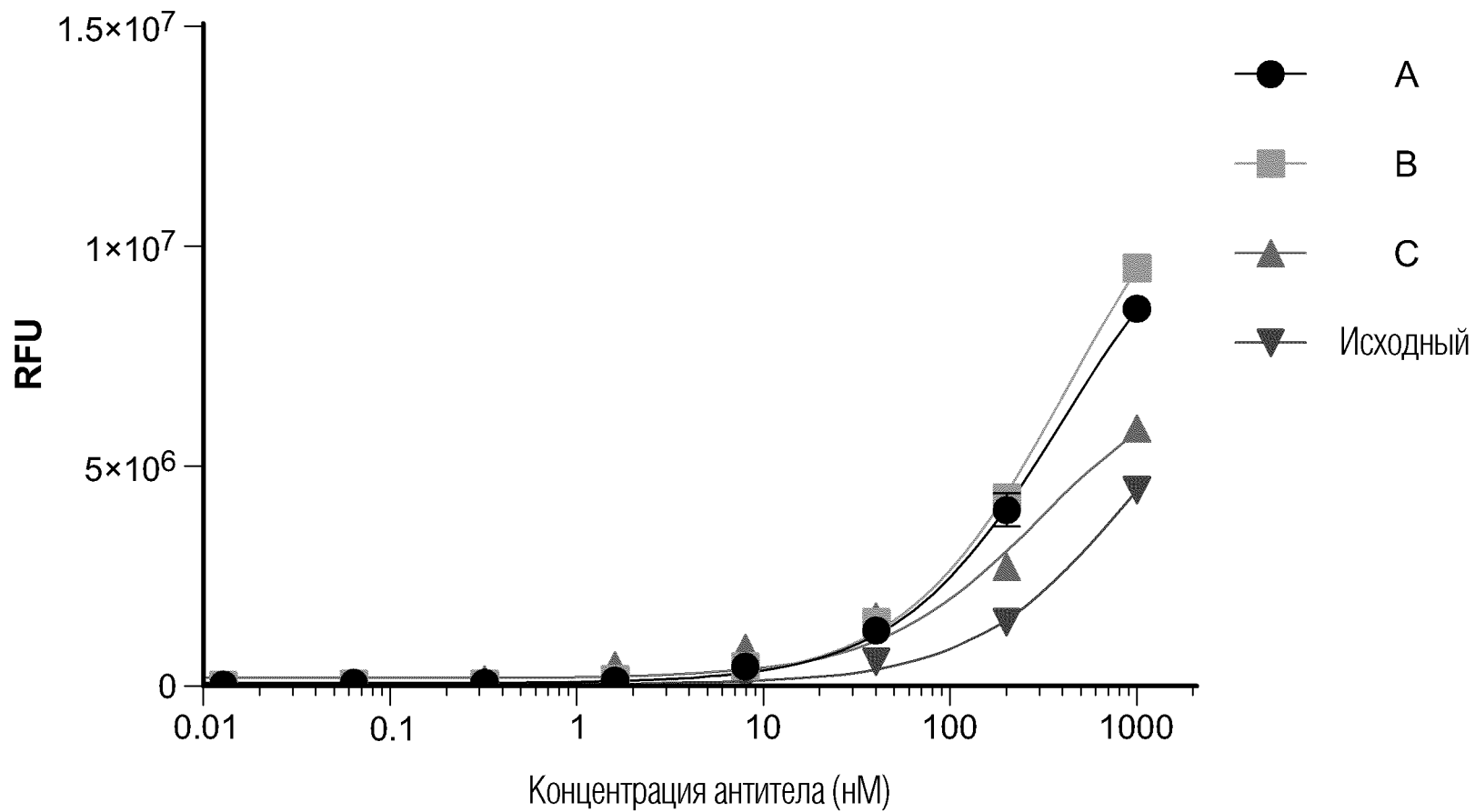
ФИГ. 2А

FGG ELISA



ФИГ. 2В

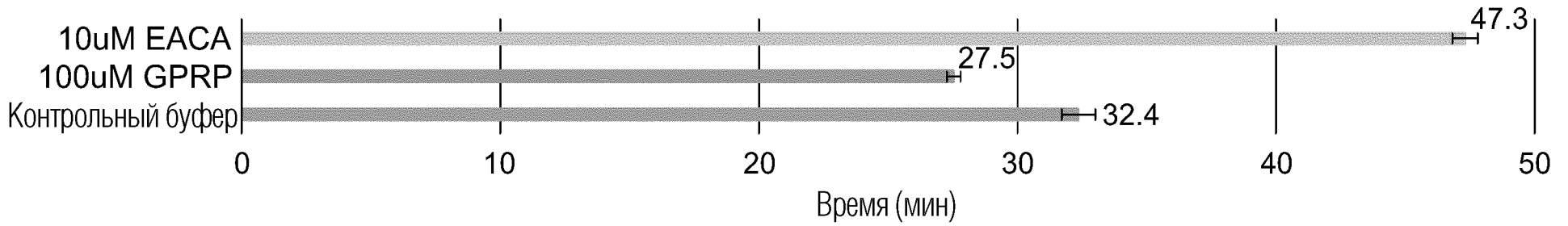
Фибрин ELISA



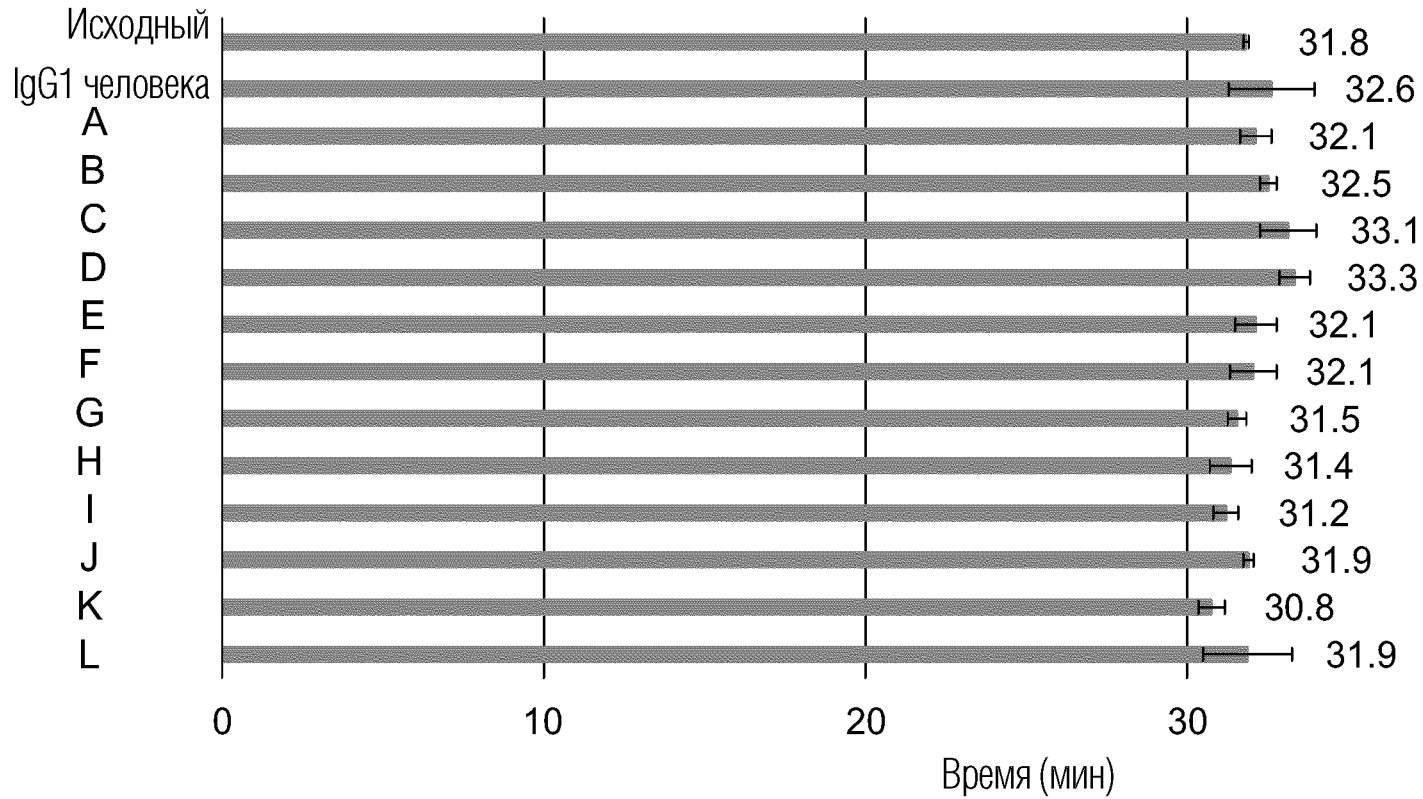
4/37

ФИГ. 2С

Время лизиса сгустка для контроля



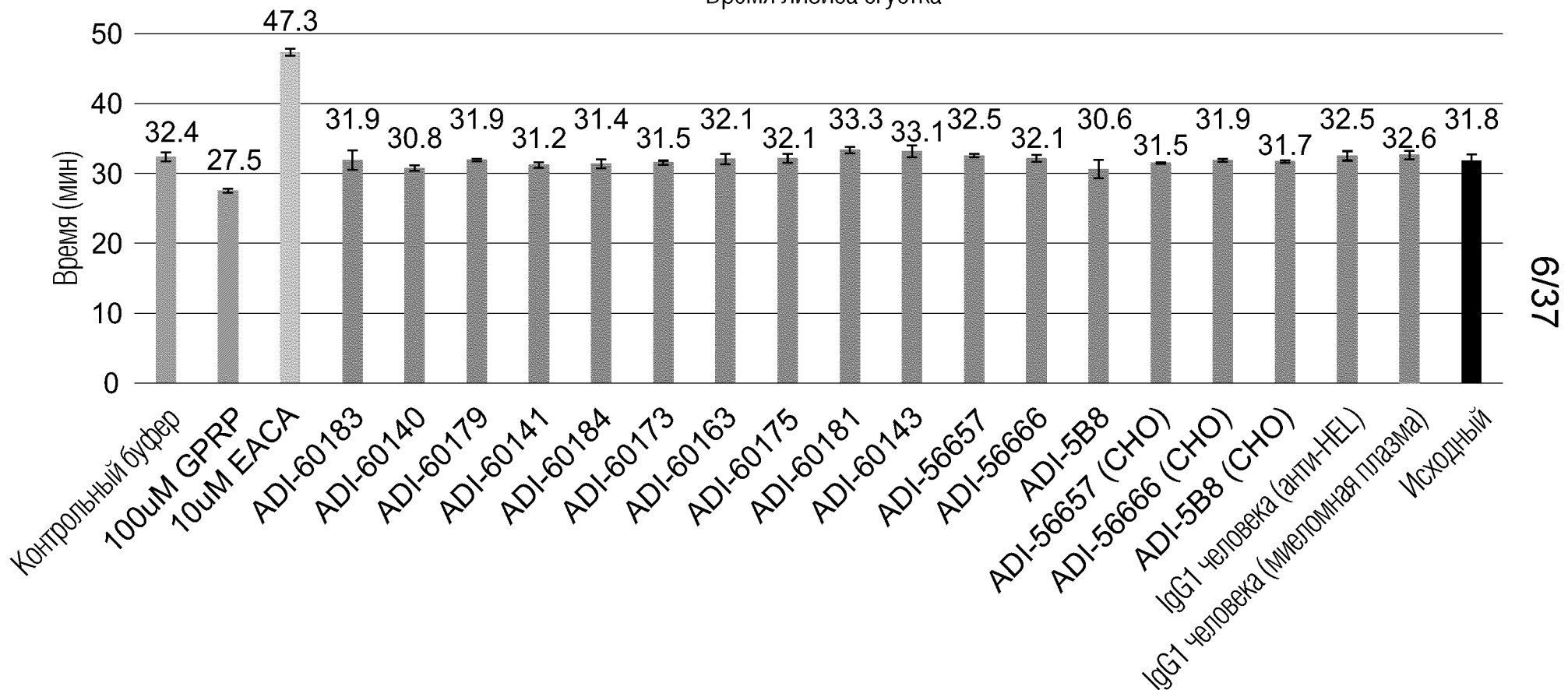
Время лизиса сгустка (мин) для тестируемых образцов



5/37

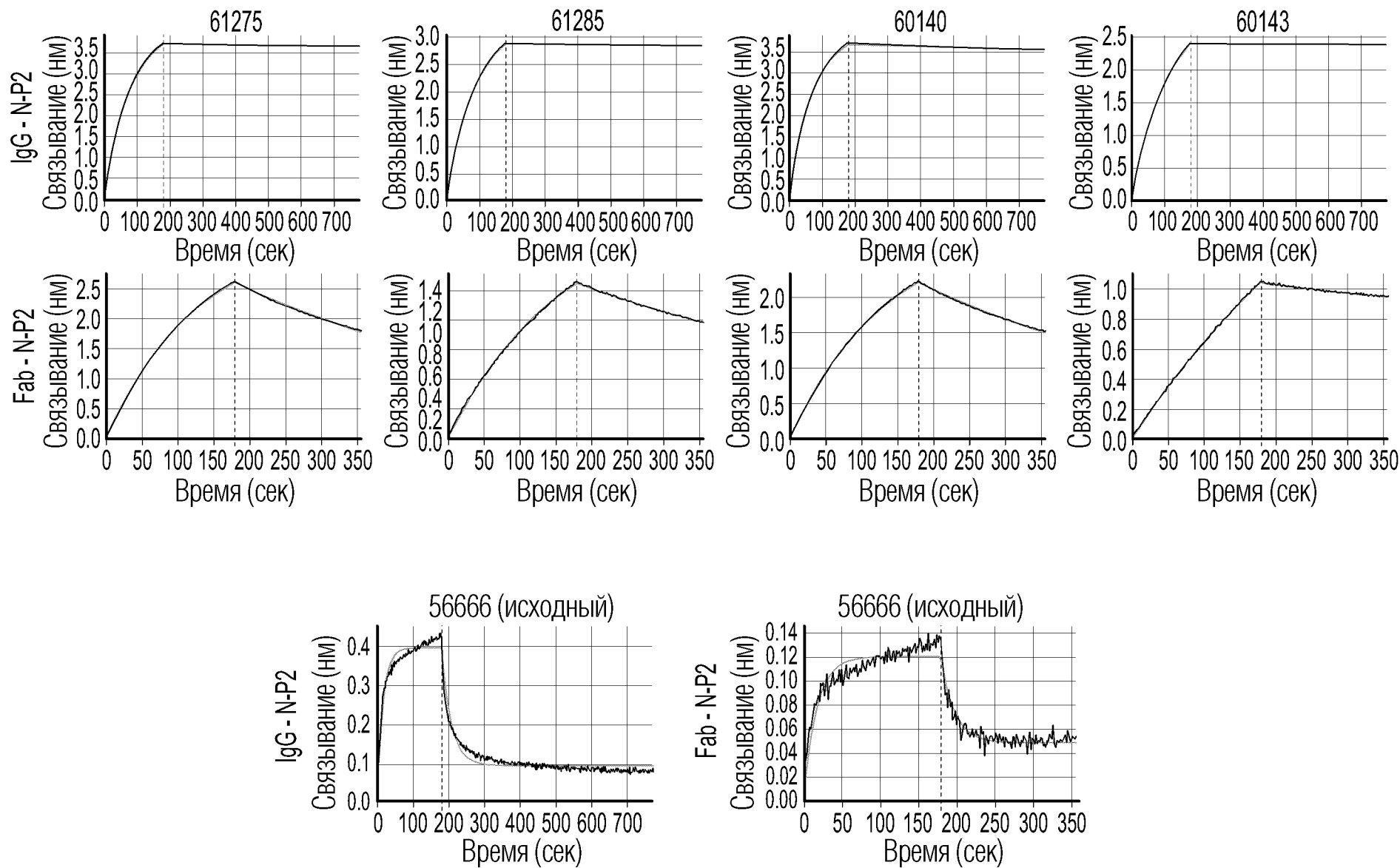
ФИГ. 3А

Время лизиса сгустка



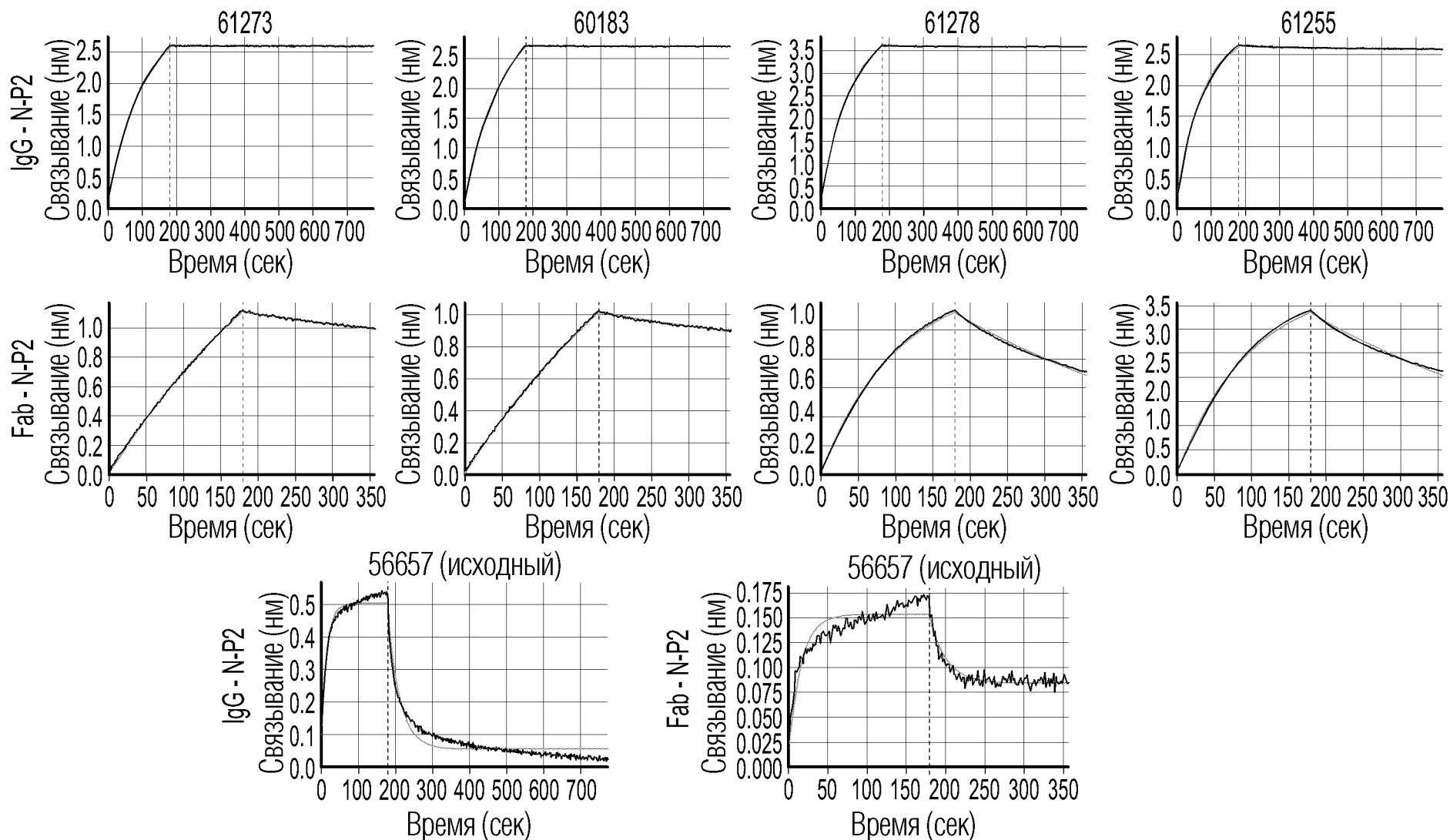
6/37

ФИГ. 3В



7/37

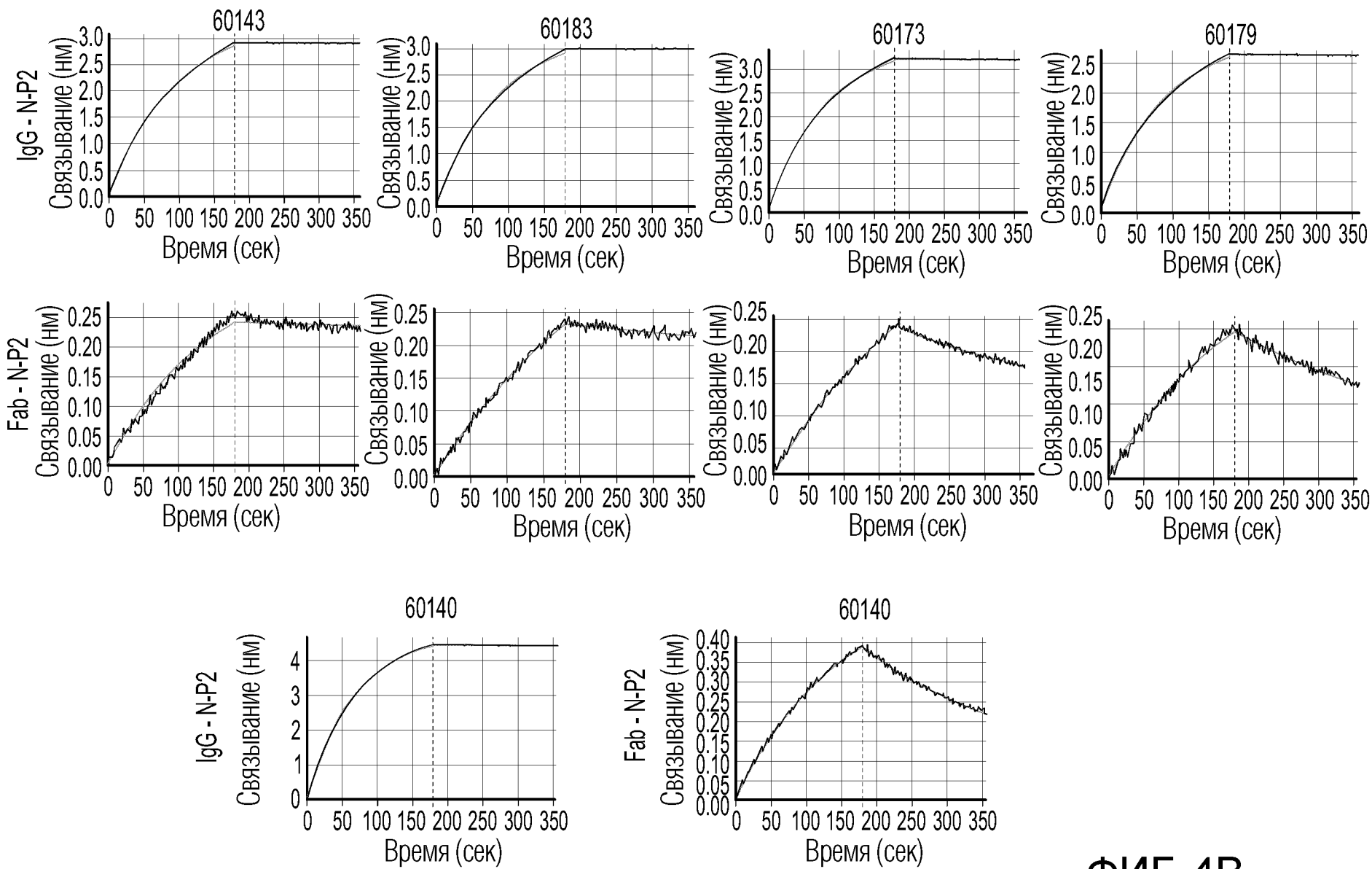
ФИГ. 4А



8/37

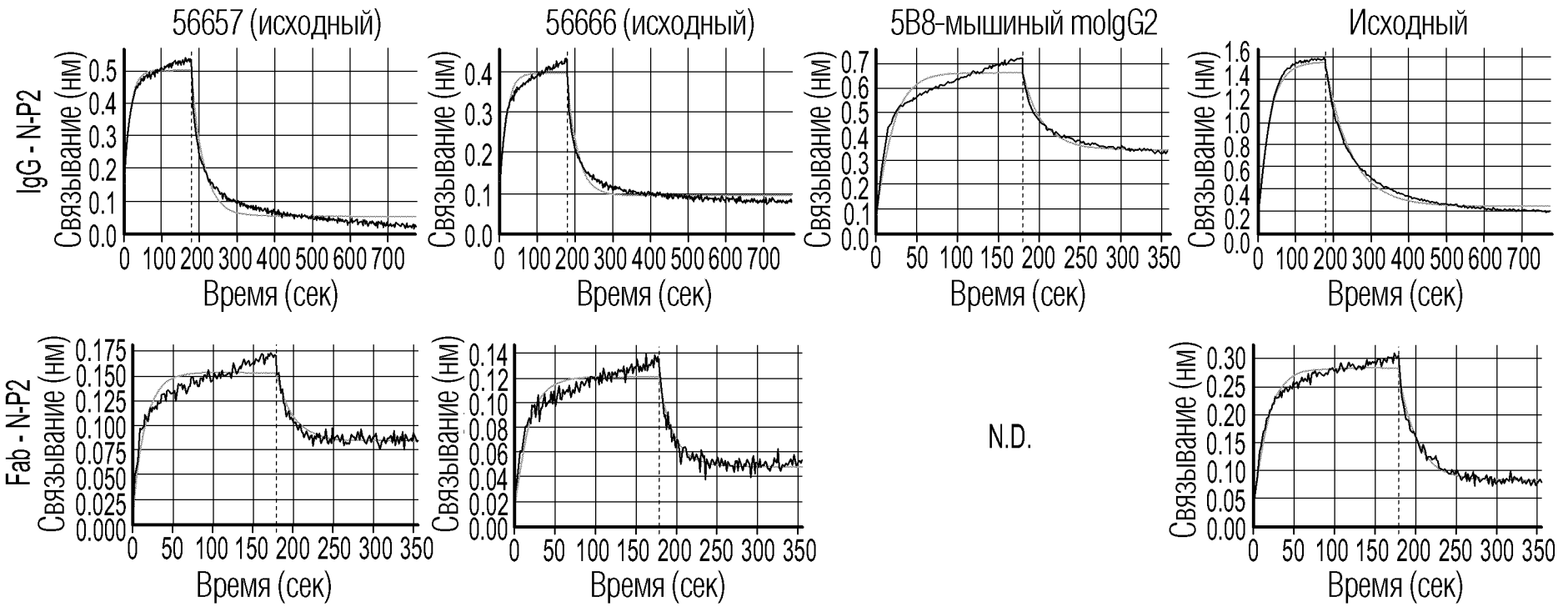
Биотинилированный на N-конце пептид P2G фибрина на сенсоре SA
 IgG в растворе (100 нМ)
 Fab в растворе (100 нМ) [моновалентный]

ФИГ. 4А (продолжение)

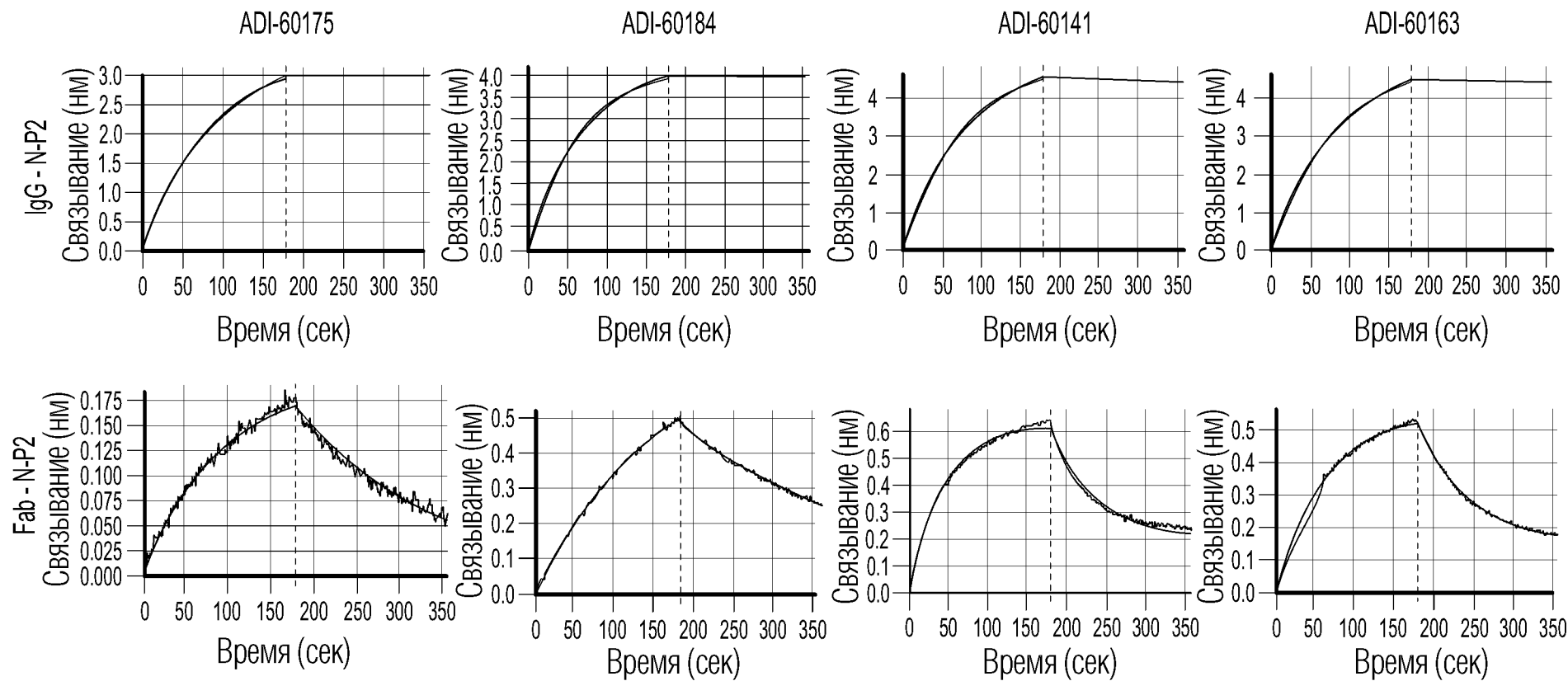


9/37

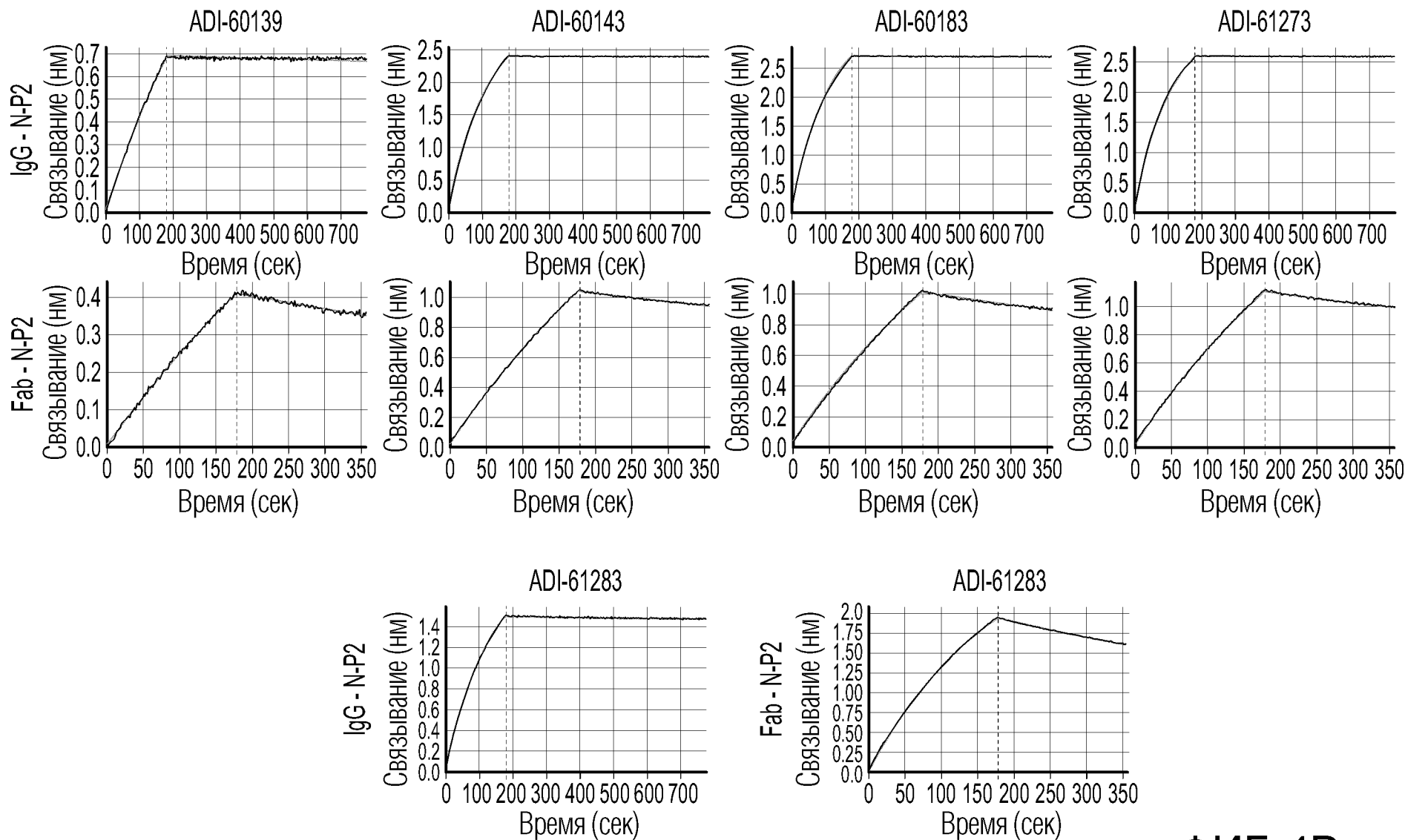
ФИГ. 4В



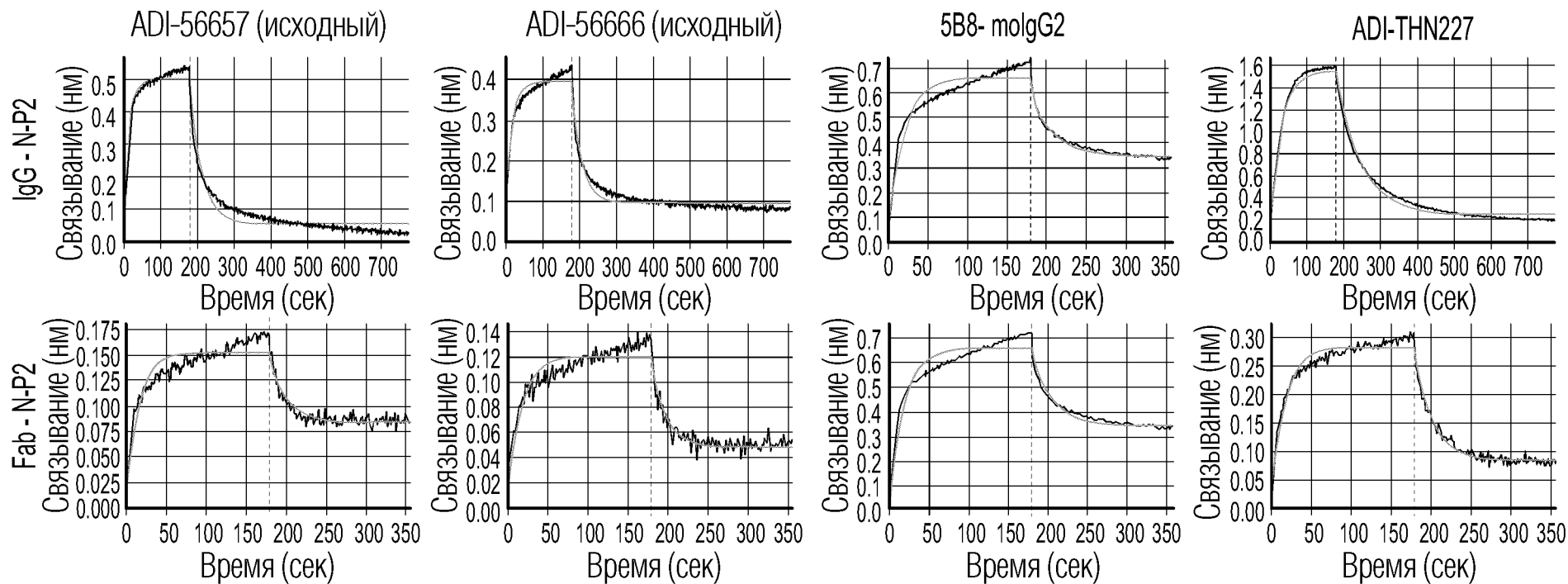
ФИГ. 4В (продолжение)



ФИГ. 4С



ФИГ. 4D

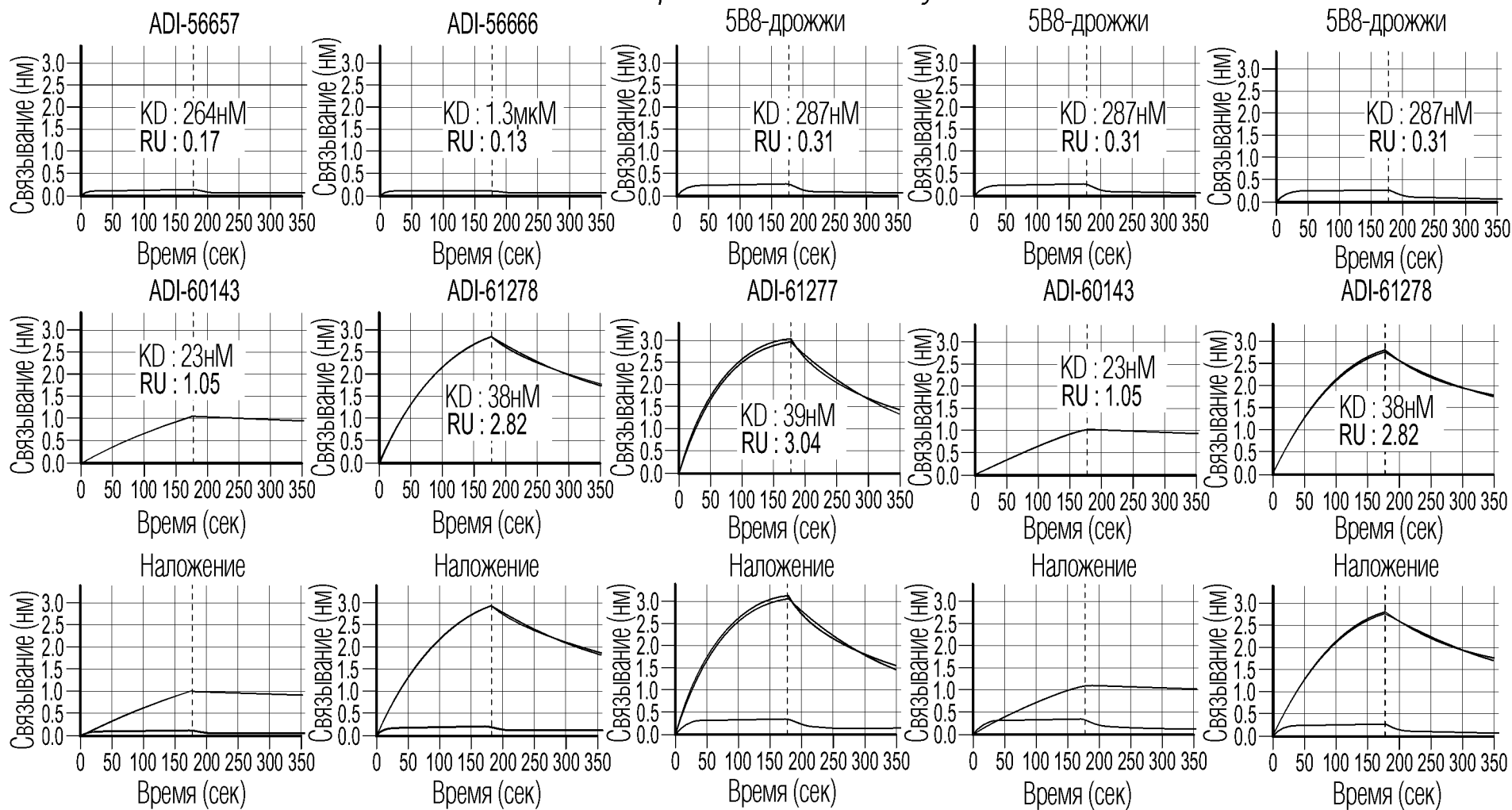


ФИГ. 4D (продолжение)

Связывание Fab Octet с биотинилированным на N-конце пептидом P2 гамма

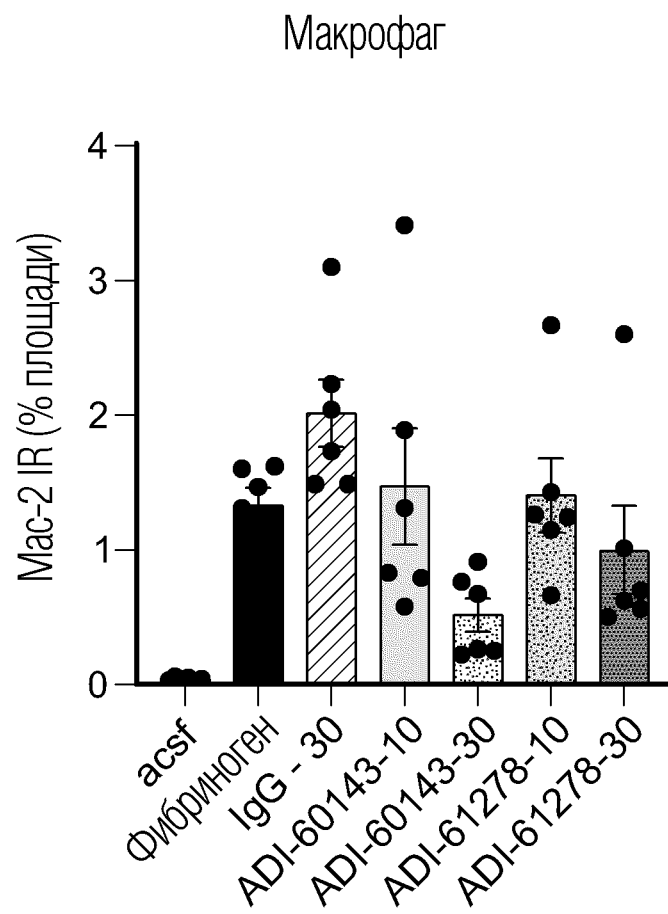
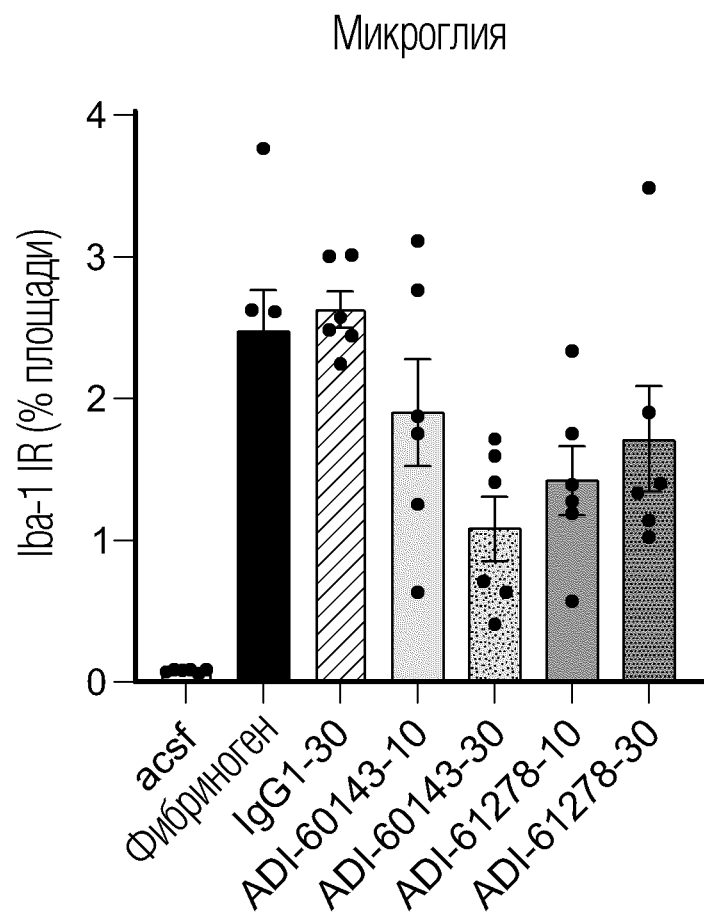
Биотинилированный на N-конце пептид P2G фибрина на сенсоре SA, 100 нМ Fab в растворе

Нормализованы по оси y



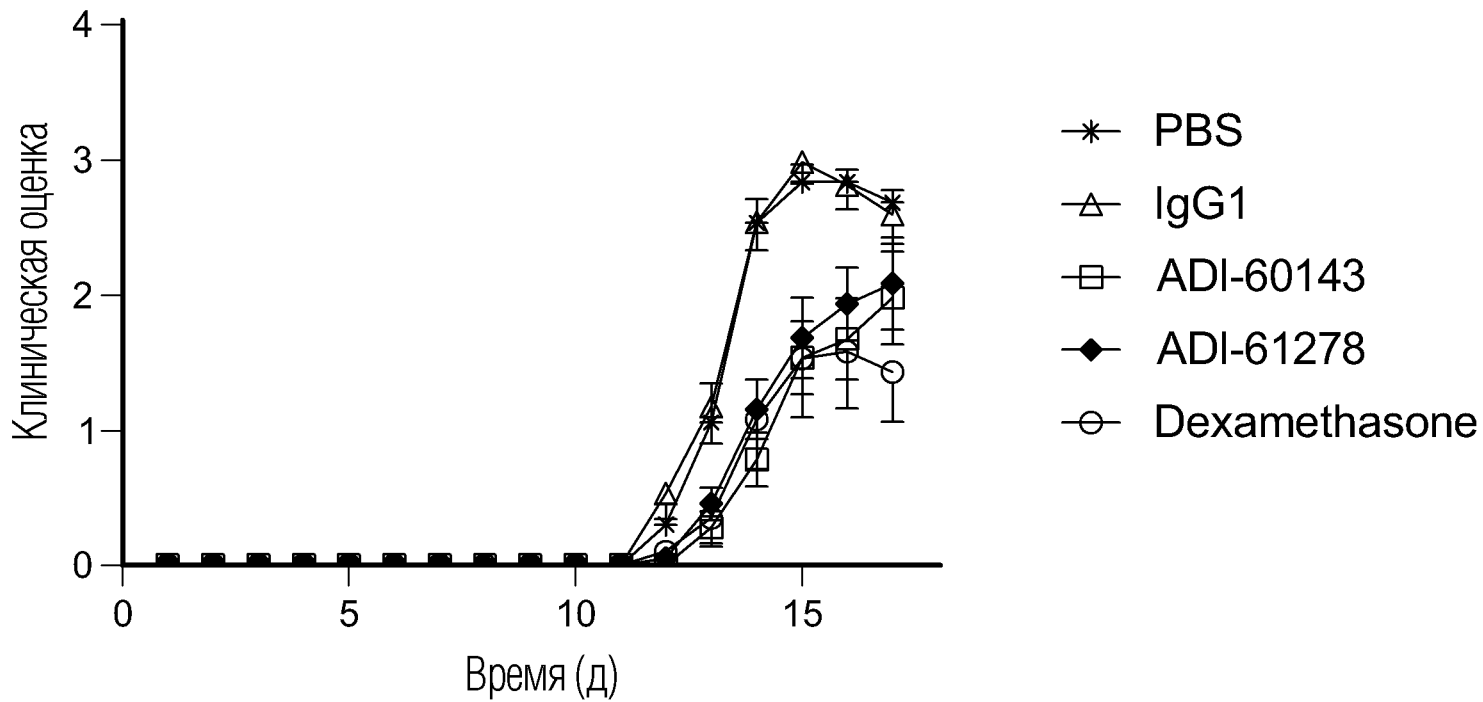
14/37

ФИГ. 5



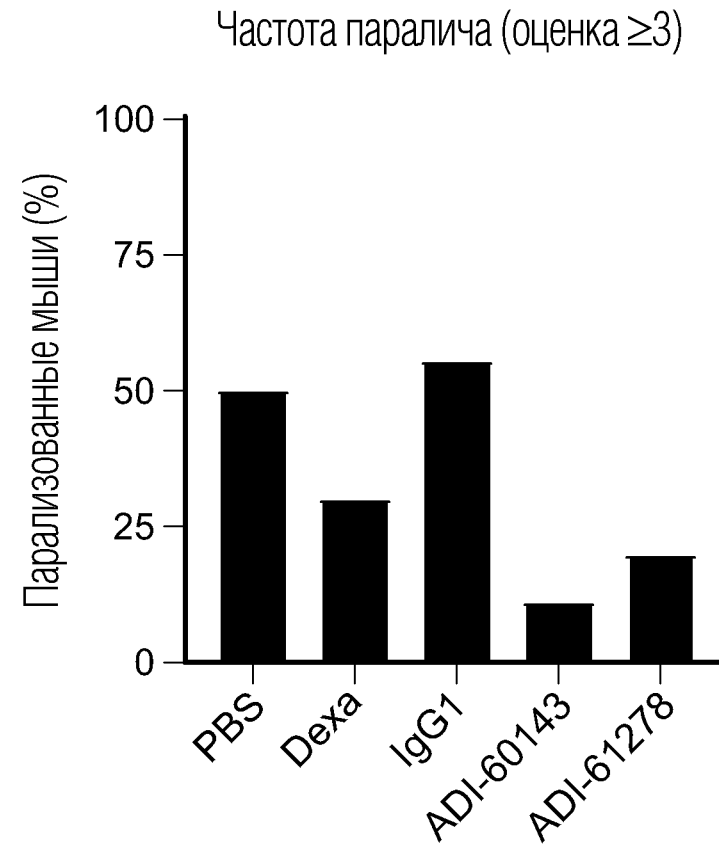
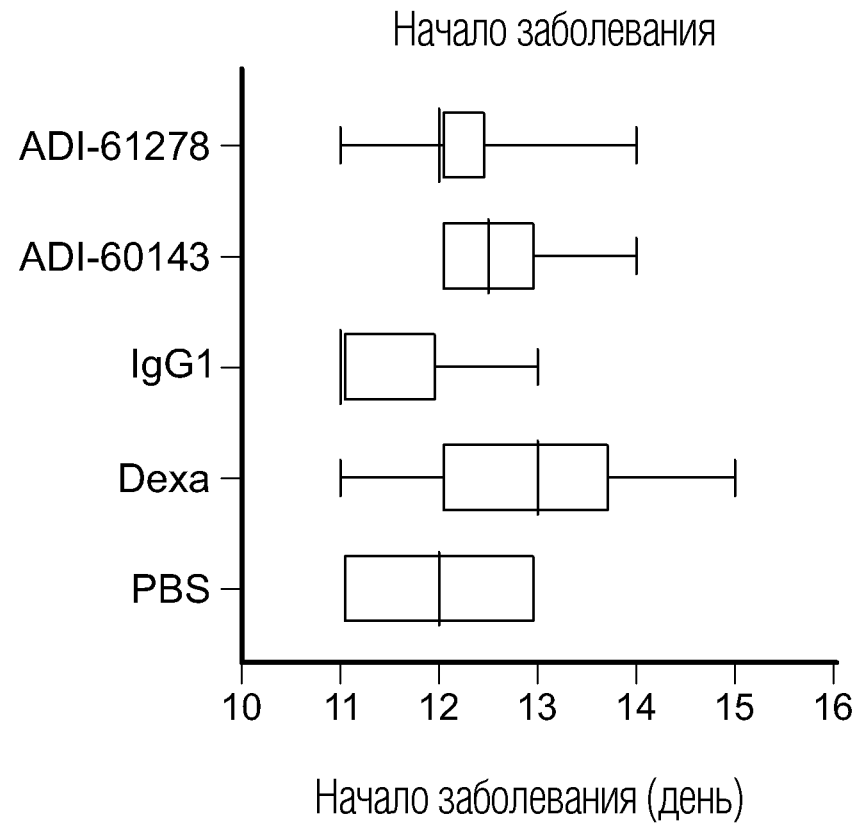
10 = 10 мг/кг
30 = 30 мг/кг

ФИГ. 6



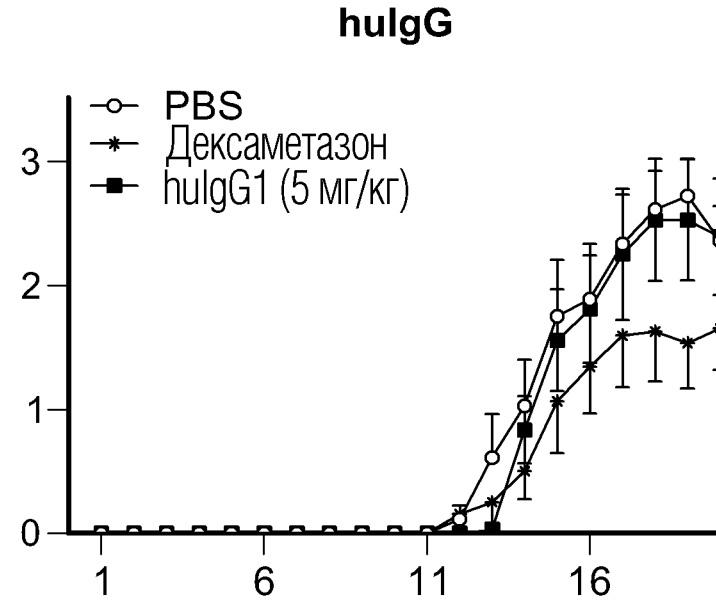
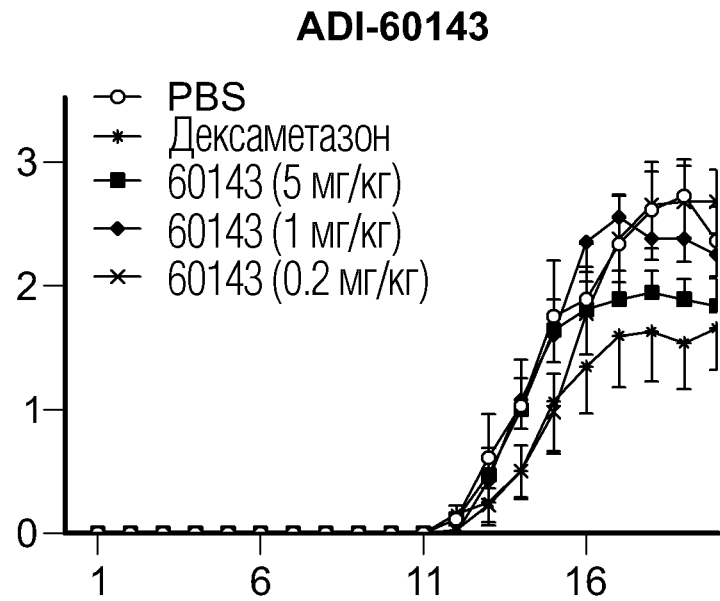
Профилактическая инъекция антител, начиная с 0 дня (5 мкг/кг i.p. каждые 3 дня)

ФИГ. 7



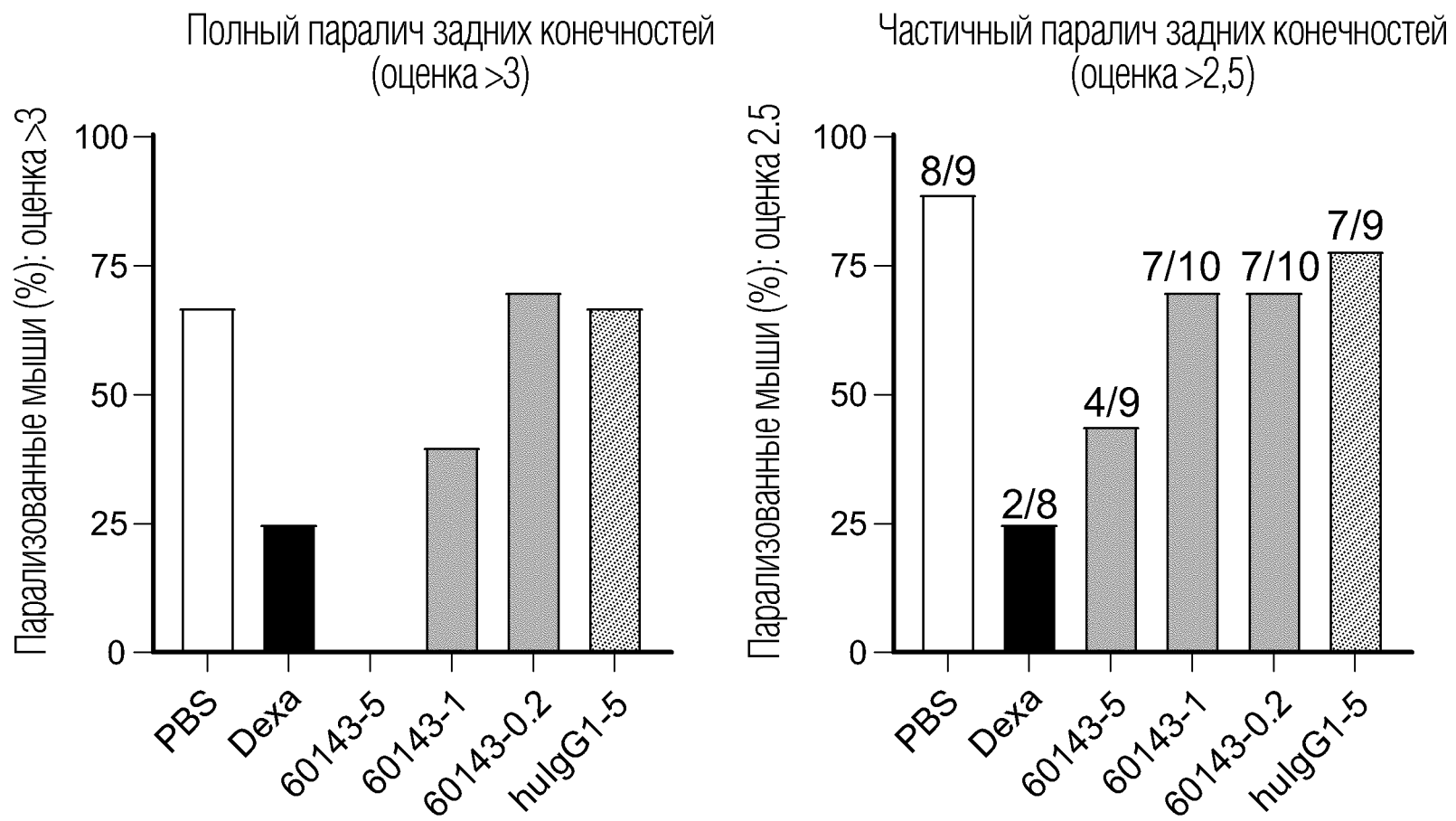
17/37

ФИГ. 8

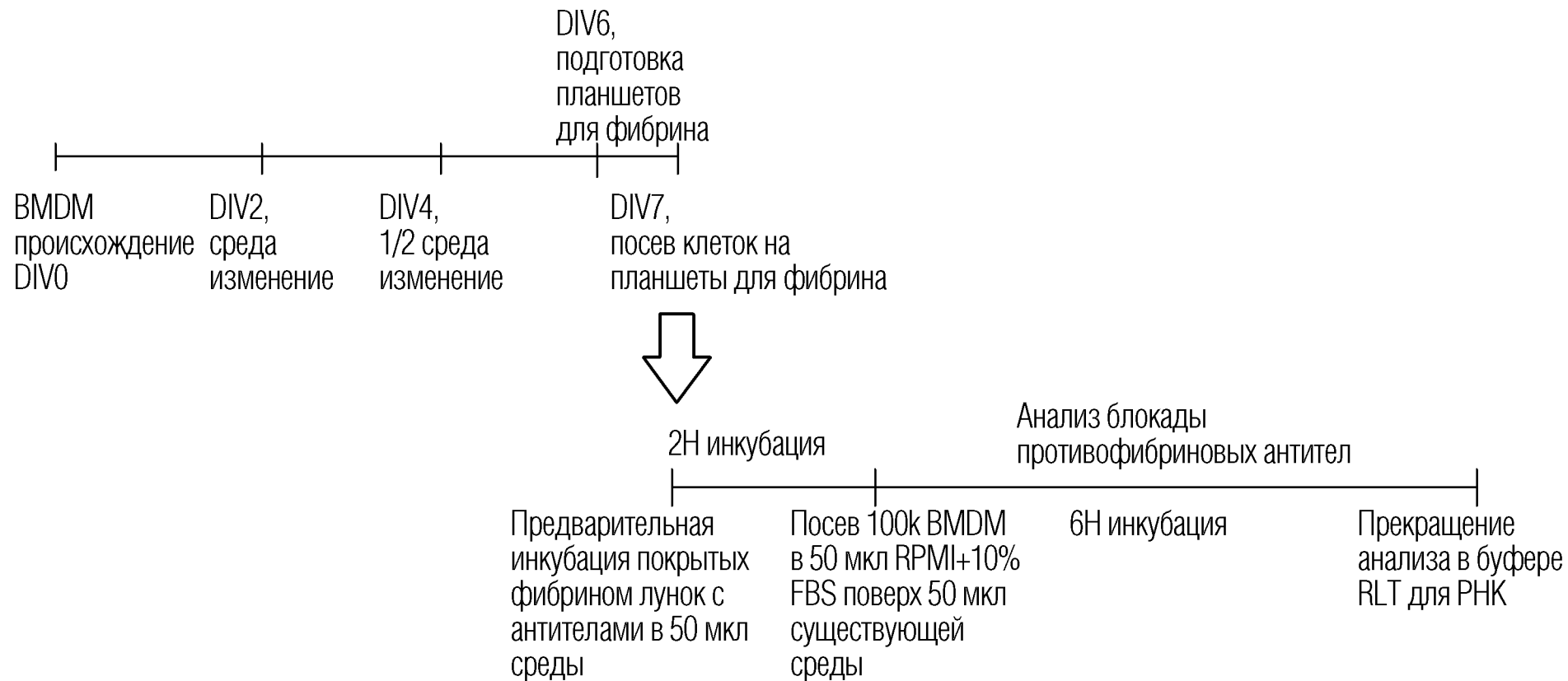


Штамм: SJL
 Путь: i.p.
 Схема: начало в 0 день, каждые 3 дня
 Продолжительность: 20 дней
 Клиническая оценка паралич задних конечностей

ФИГ. 9



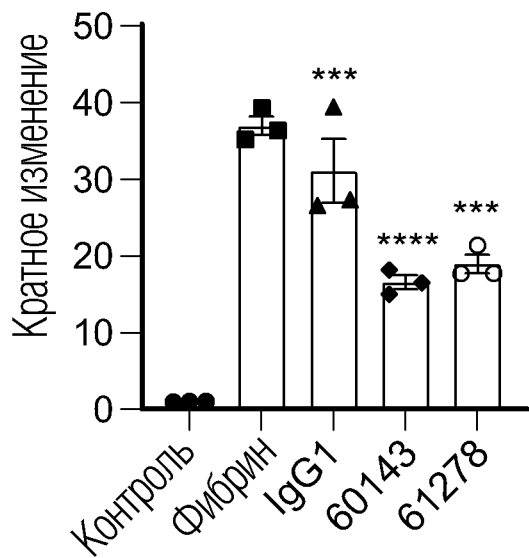
ФИГ. 10



20/37

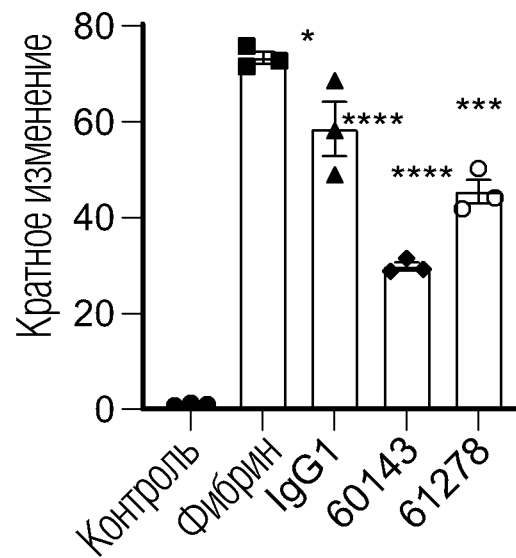
ФИГ. 11

Экспрессия il-12b BMDM
 Концентрация антител 50мкг/мл
 1-5-2021



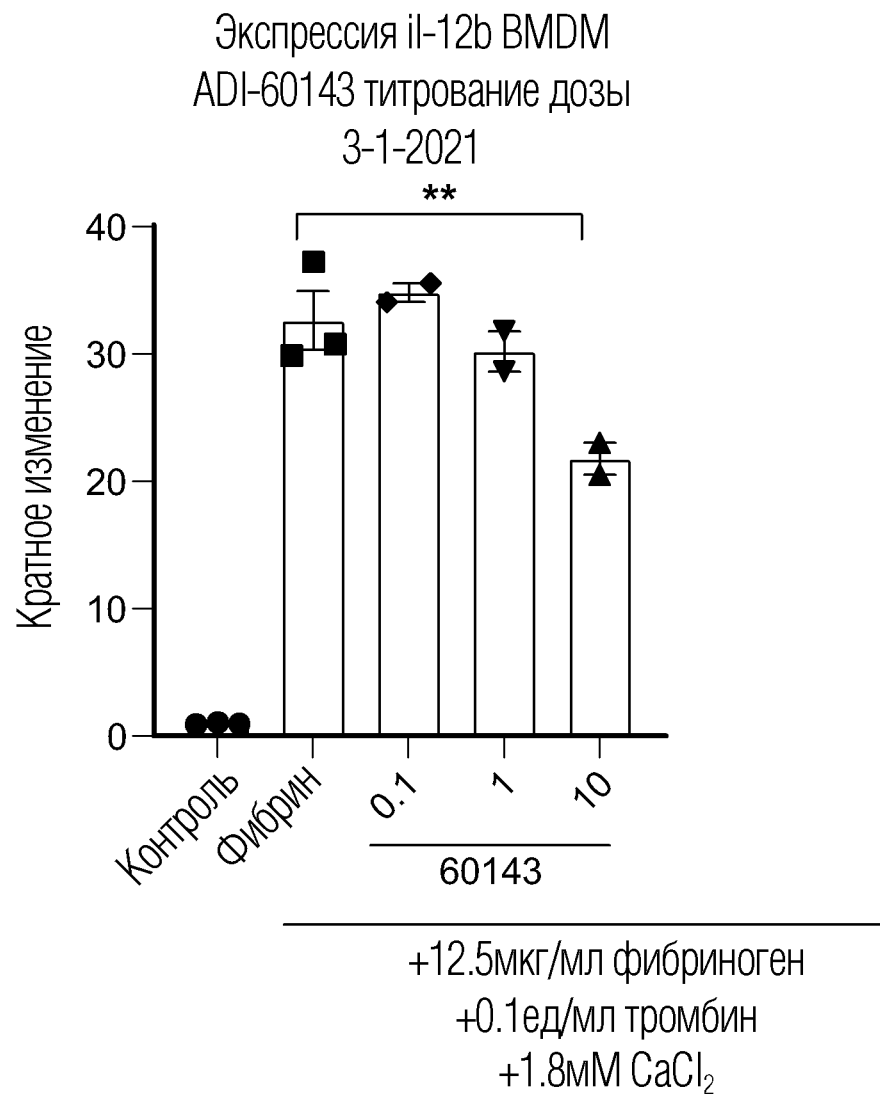
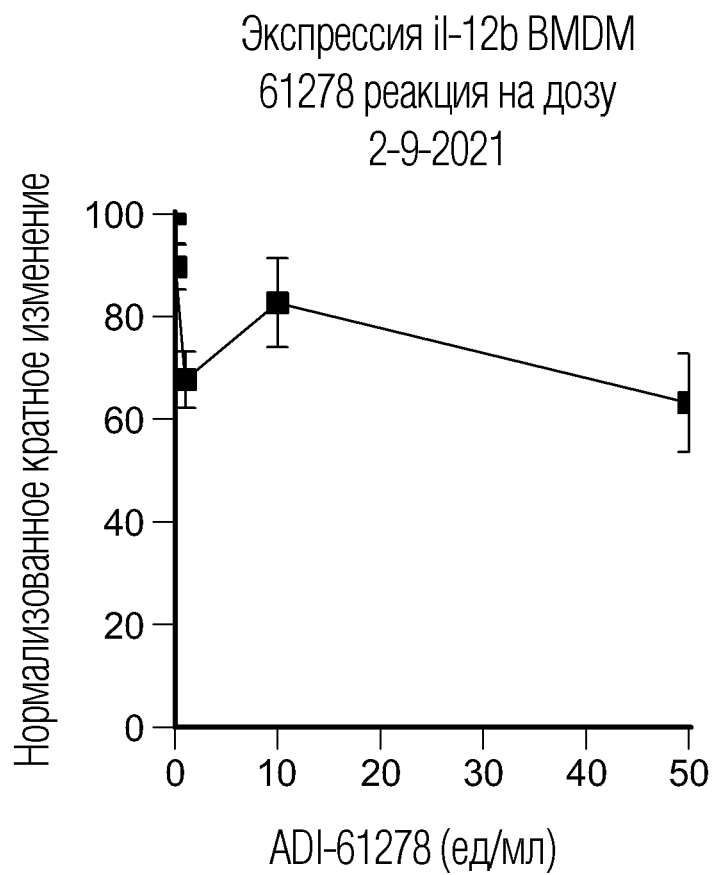
+12.5мкг/мл фибриноген
 +0.1ед/мл тромбин
 +1.8мМ CaCl₂

Экспрессия il-12b BMDM
 Концентрация антител 10мкг/мл
 1-28-2021



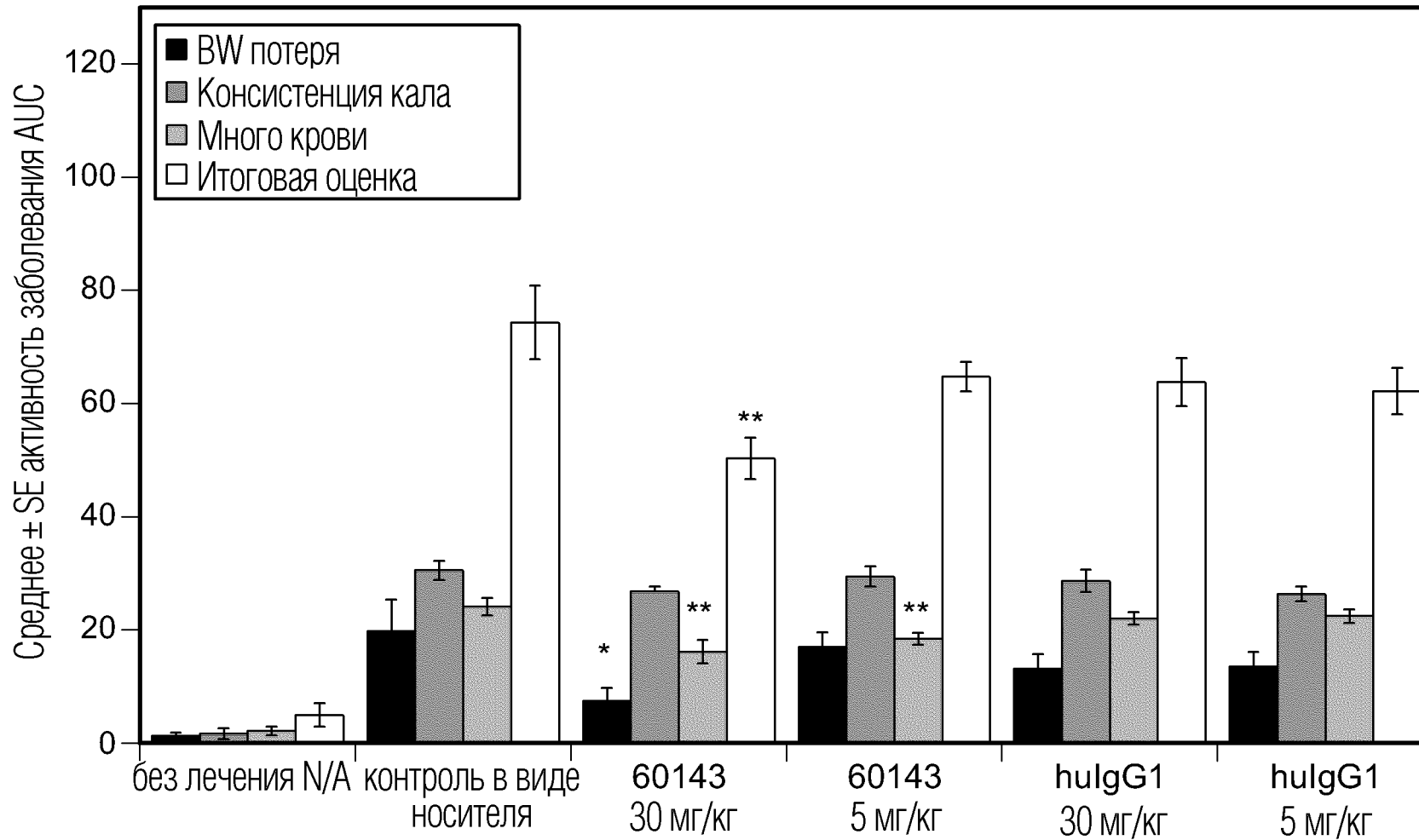
+12.5мкг/мл фибриноген
 +0.1ед/мл тромбин
 +1.8мМ CaCl₂

ФИГ. 12

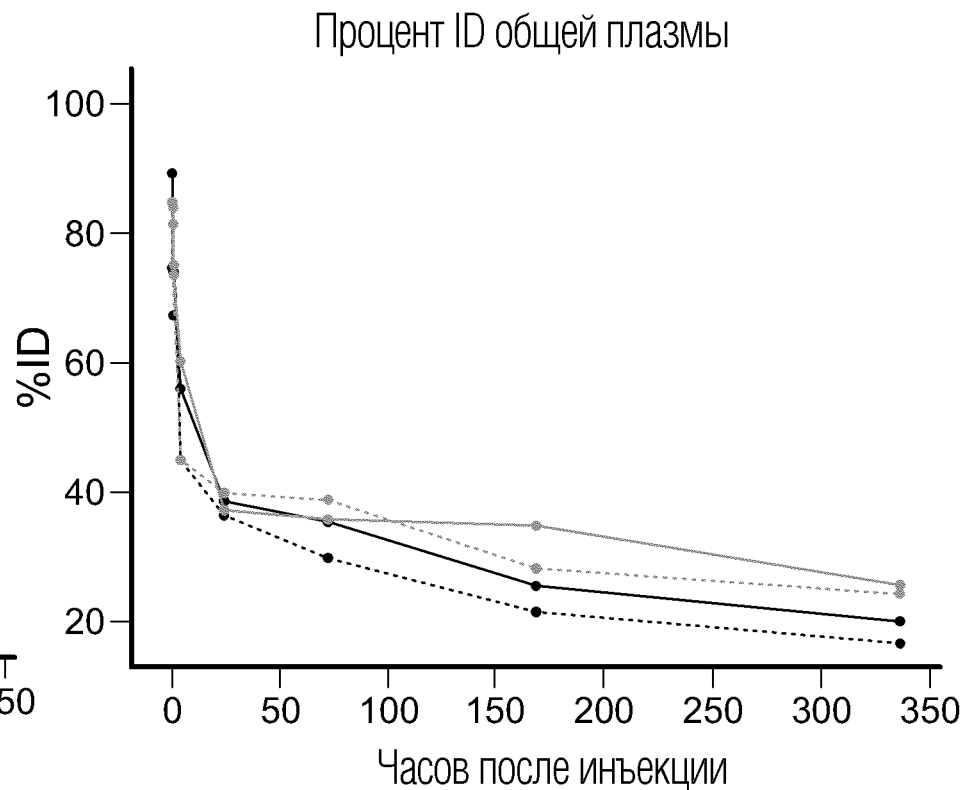
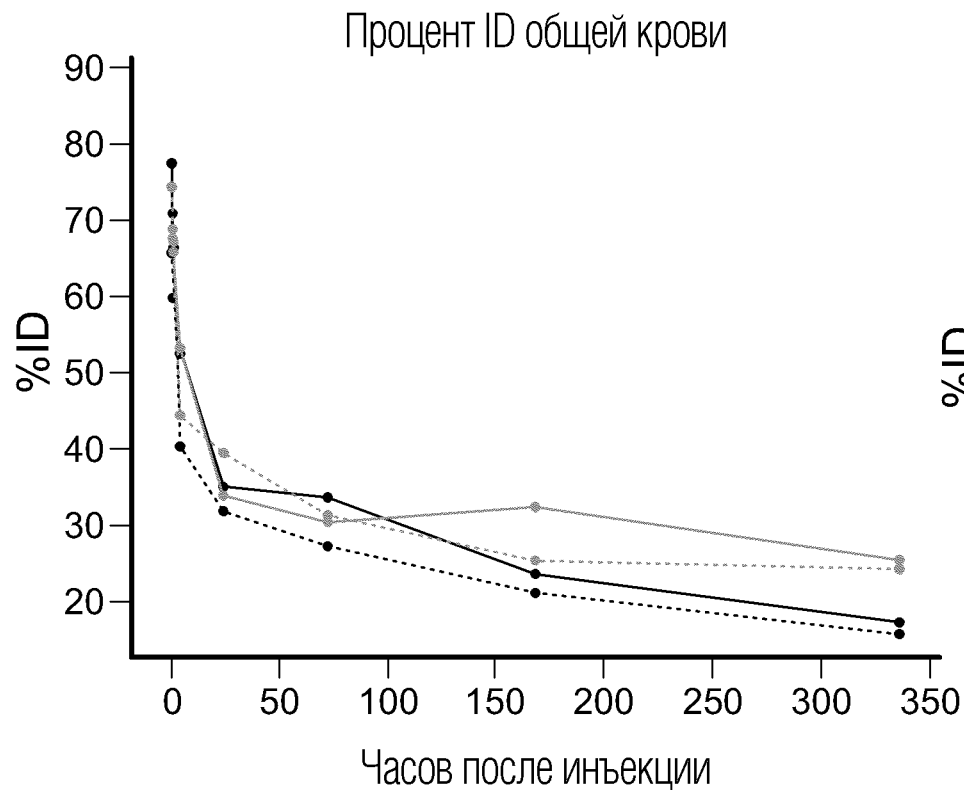


ФИГ. 13

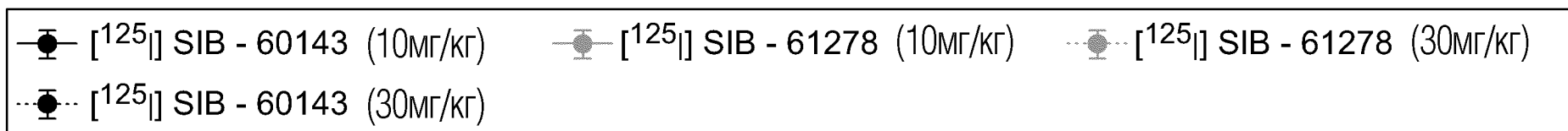
DSS модель для колита - активность заболевания AUC



ФИГ. 14



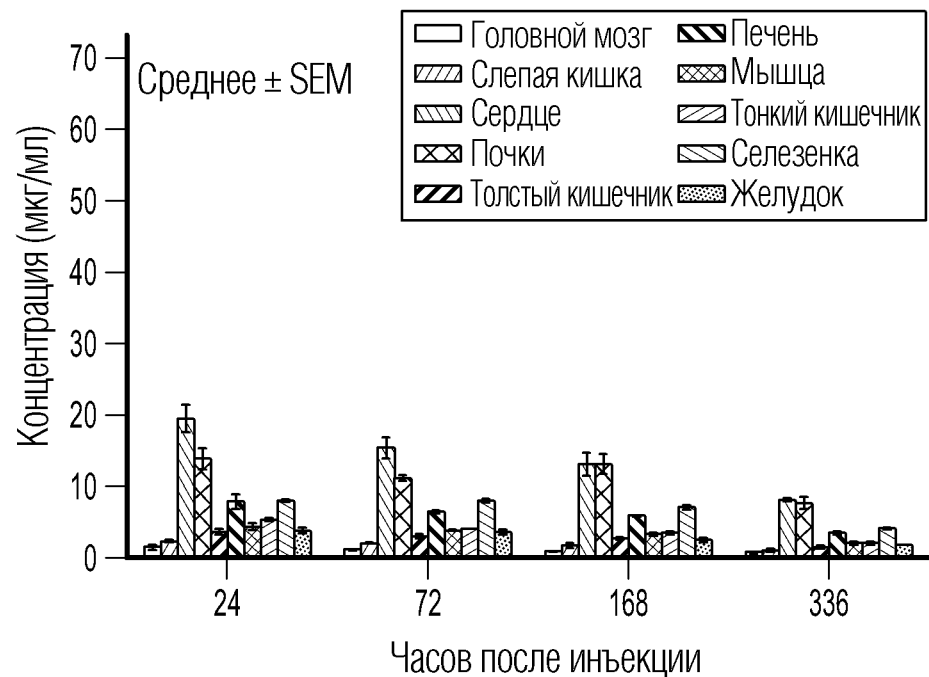
24/37



ФИГ. 15А

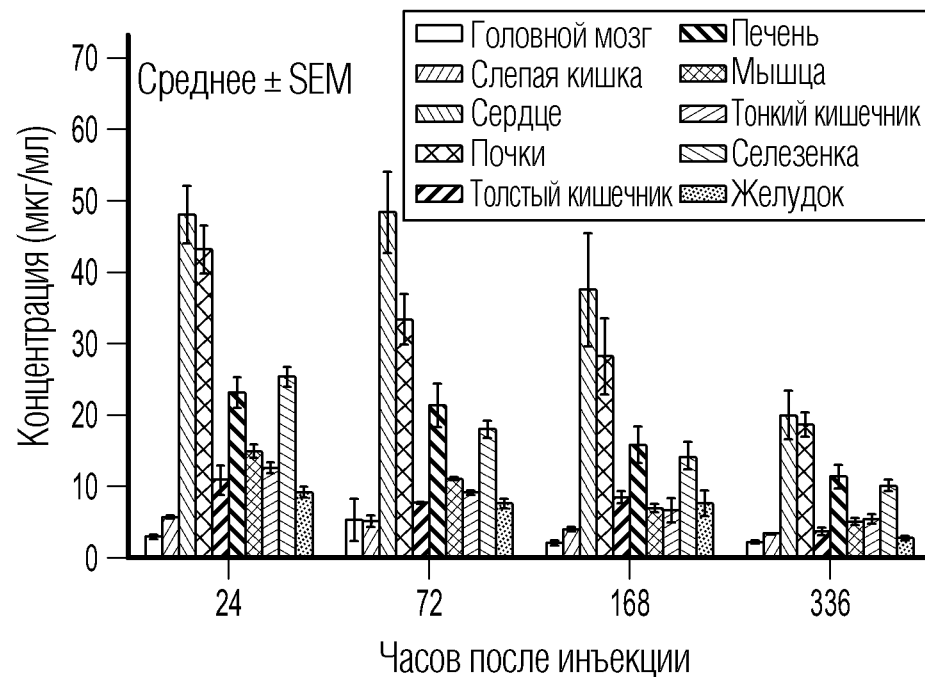
ФИГ. 15В

Биораспределение [¹²⁵I]SIB-60143 (10 мг/кг)



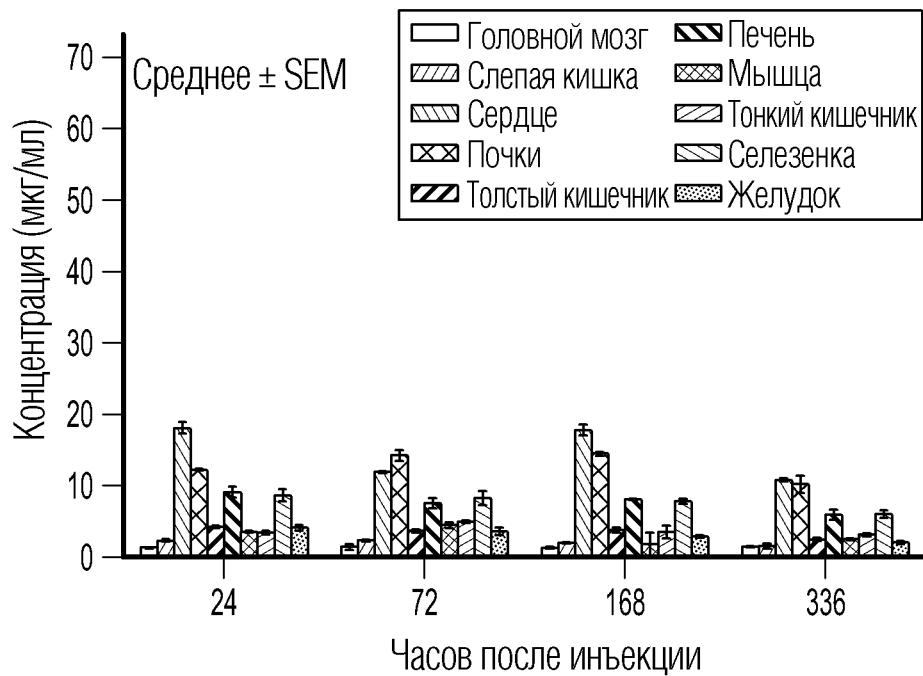
ФИГ. 16А

Биораспределение [¹²⁵I]SIB-60143 (30 мг/кг)



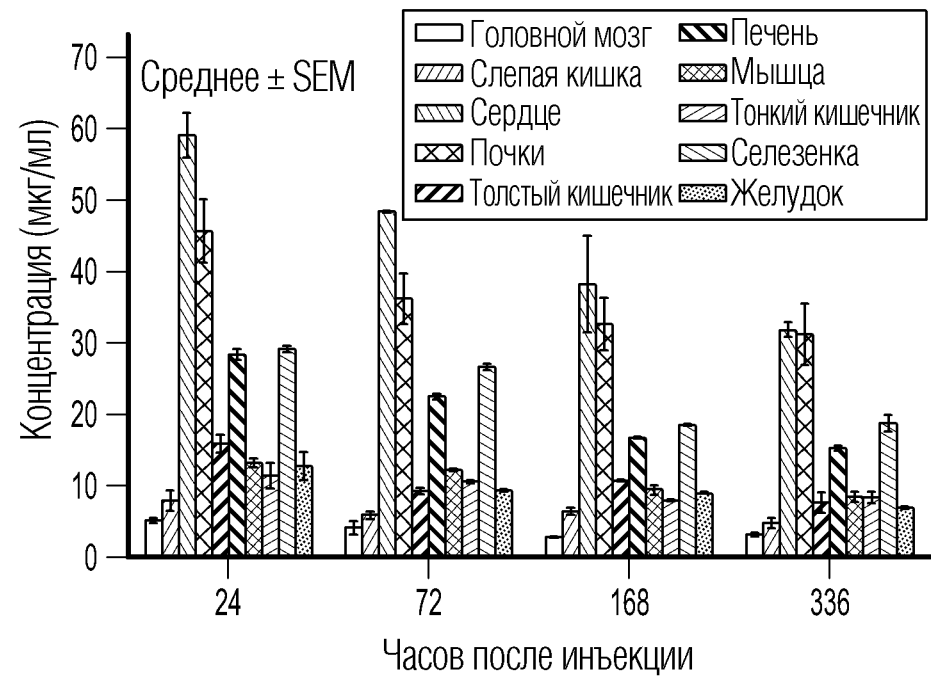
ФИГ. 16В

Биораспределение [¹²⁵I]SIB-61278 (10 мг/кг)

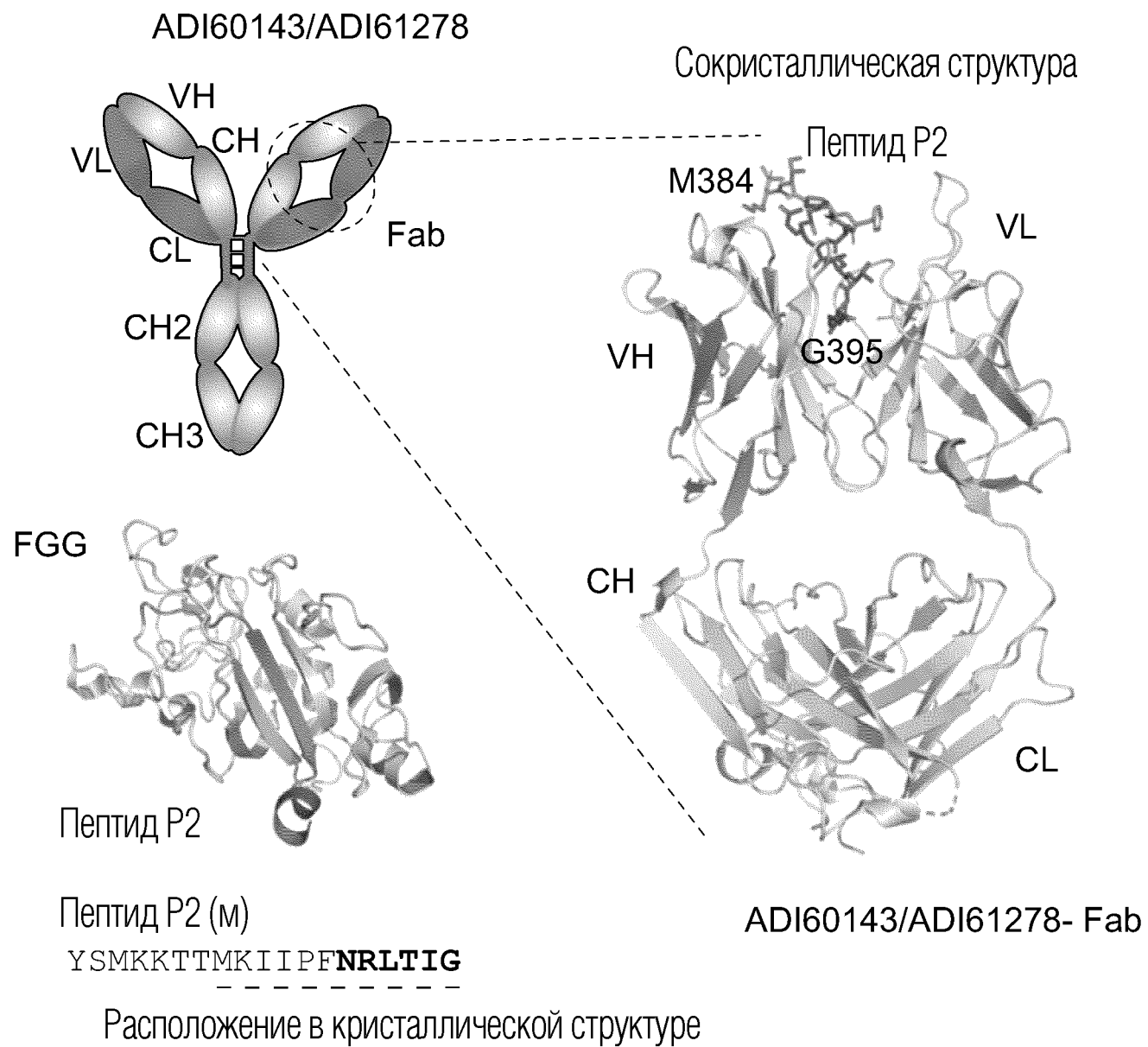


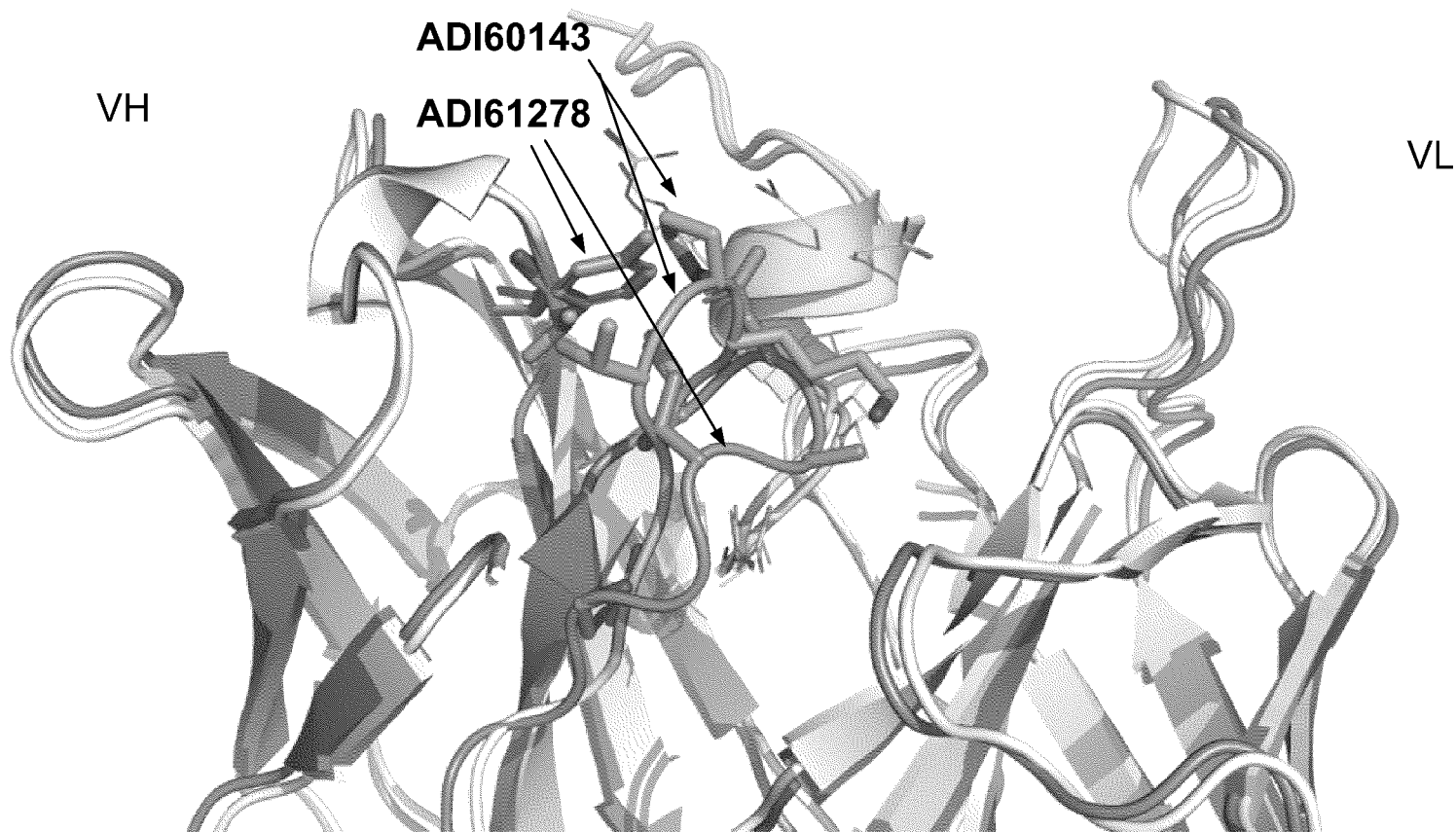
ФИГ. 16С

Биораспределение [¹²⁵I]SIB-61278 (30 мг/кг)



ФИГ. 16D

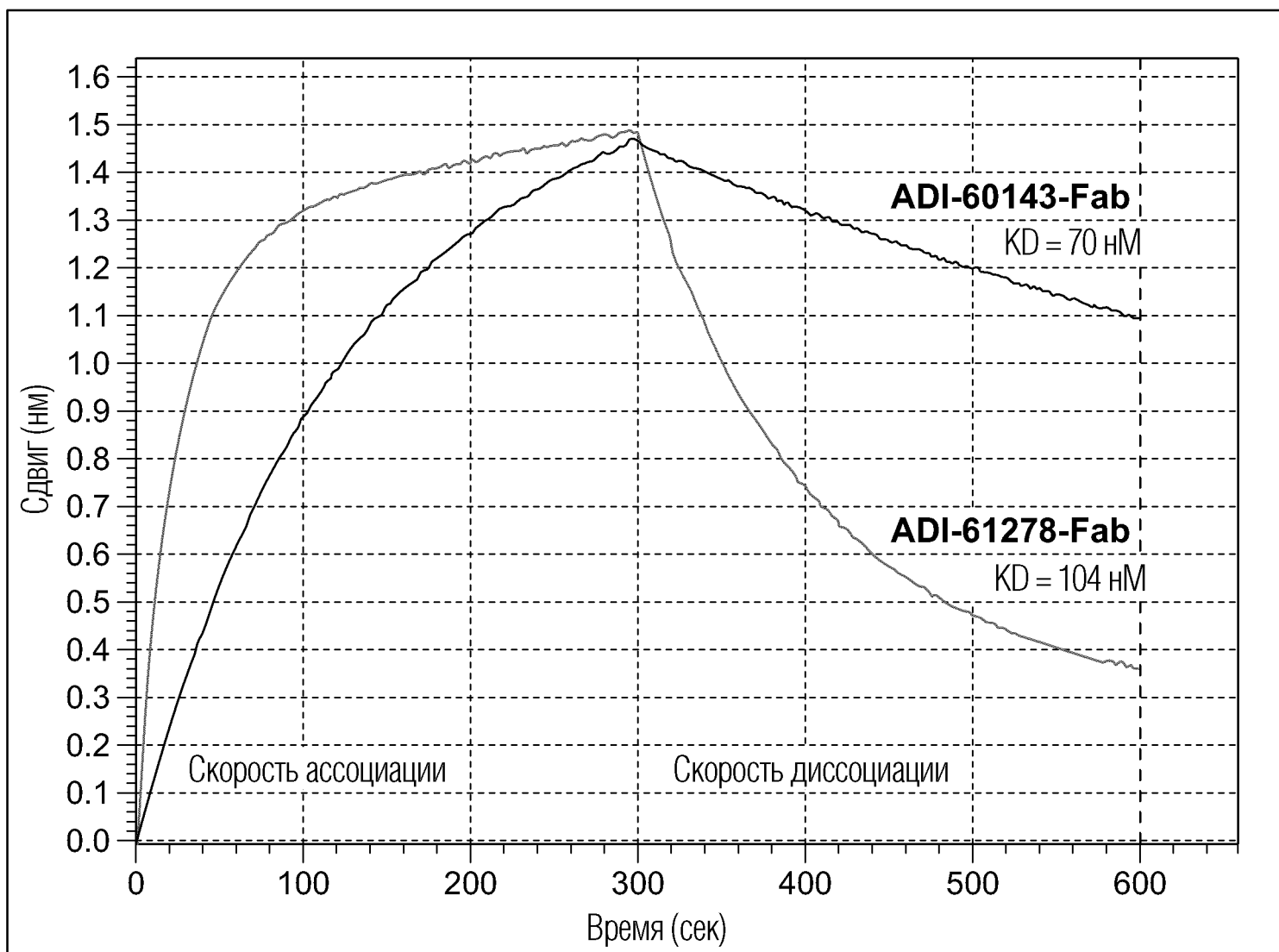




28/37

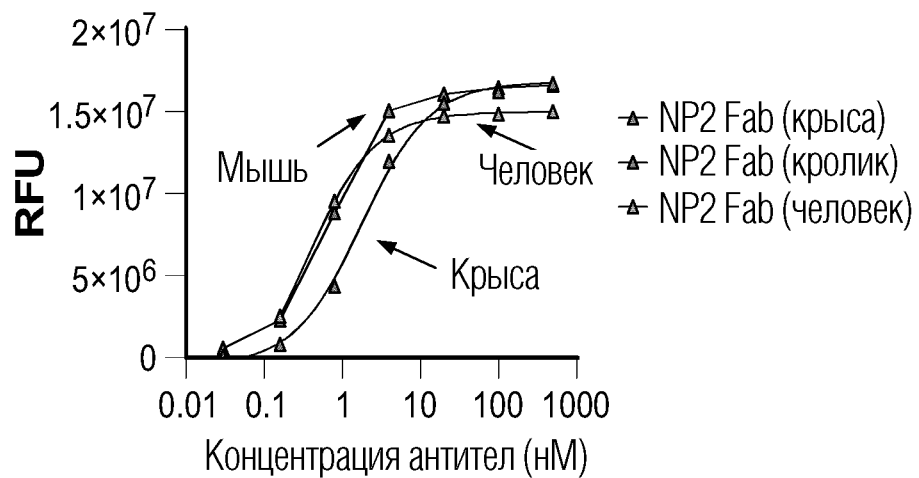
Название	Тип	CDR1	CDR2	CDR3
ADI60143 HC	VH	<u>ST</u> W <u>I</u> H	LIDPSDSYTNYNQKFRG	<u>SK</u> PTGG
ADI61278 HC	VH	<u>SY</u> W <u>I</u> H	LIDPSDSYTNYNQKFRG	<u>SD</u> ATGG

ФИГ. 18



ФИГ. 19

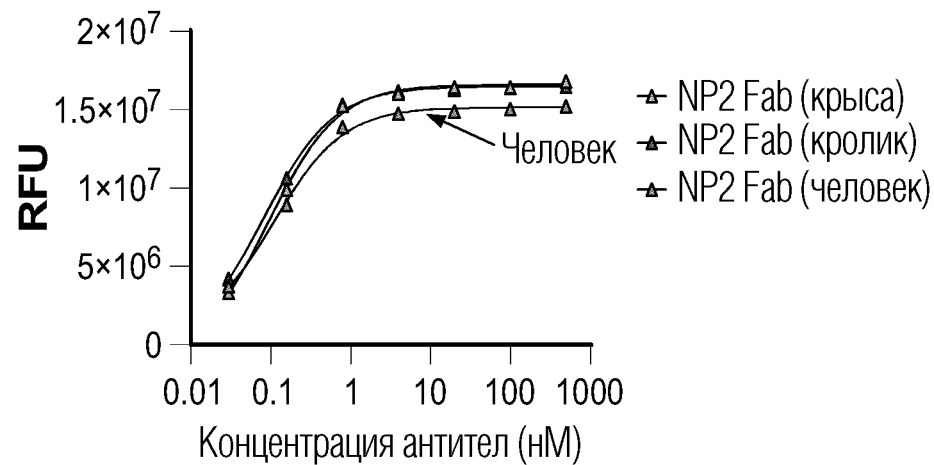
A



EC50 (нМ)	Человек	Крыса	Кролик
	0.34	1.78	0.67

B

ADI-60143 IgG ELISA

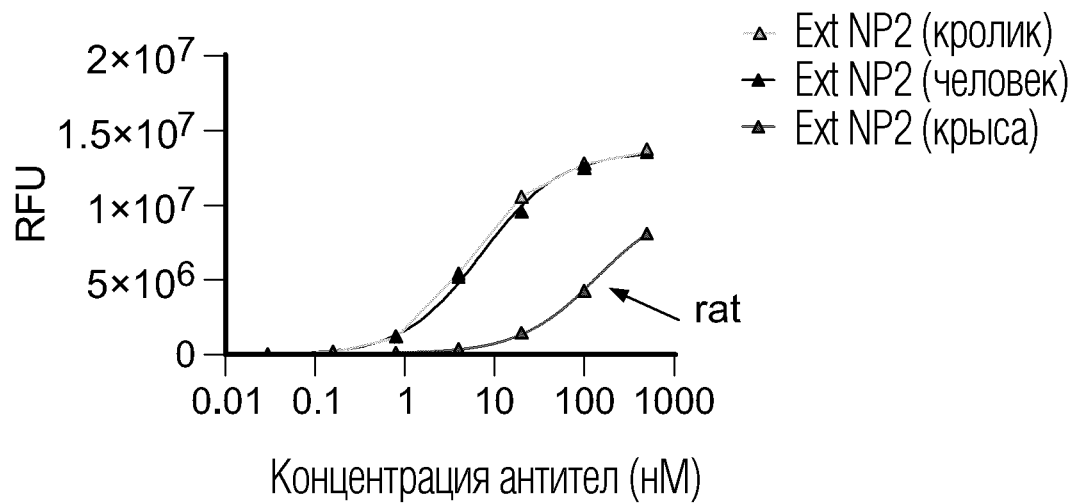


EC50 (нМ)	Человек	Крыса	Кролик
	0.11	0.094	0.082

30/37

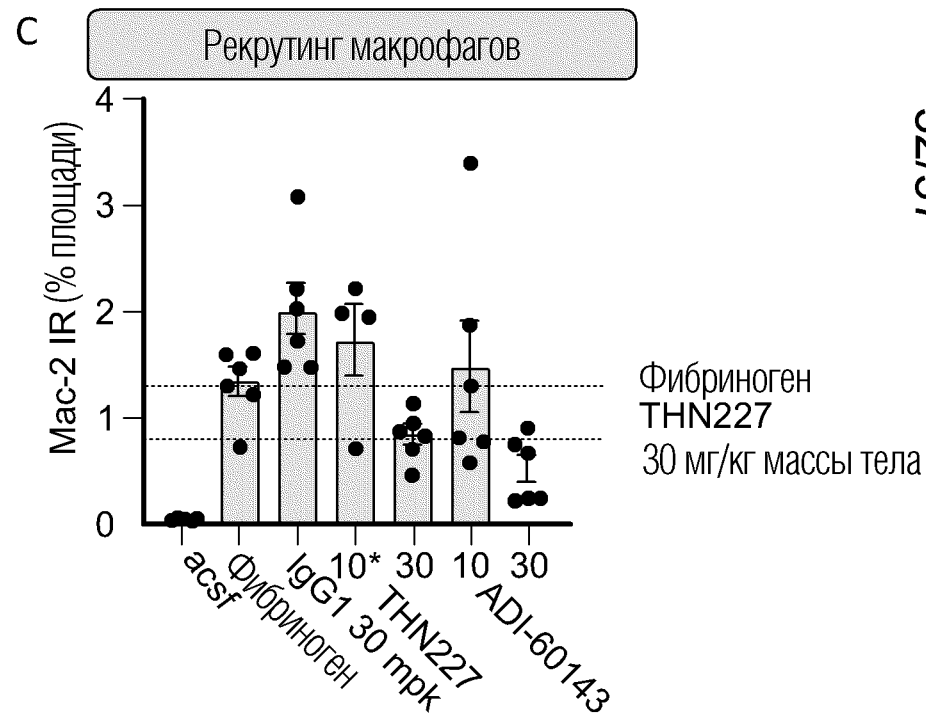
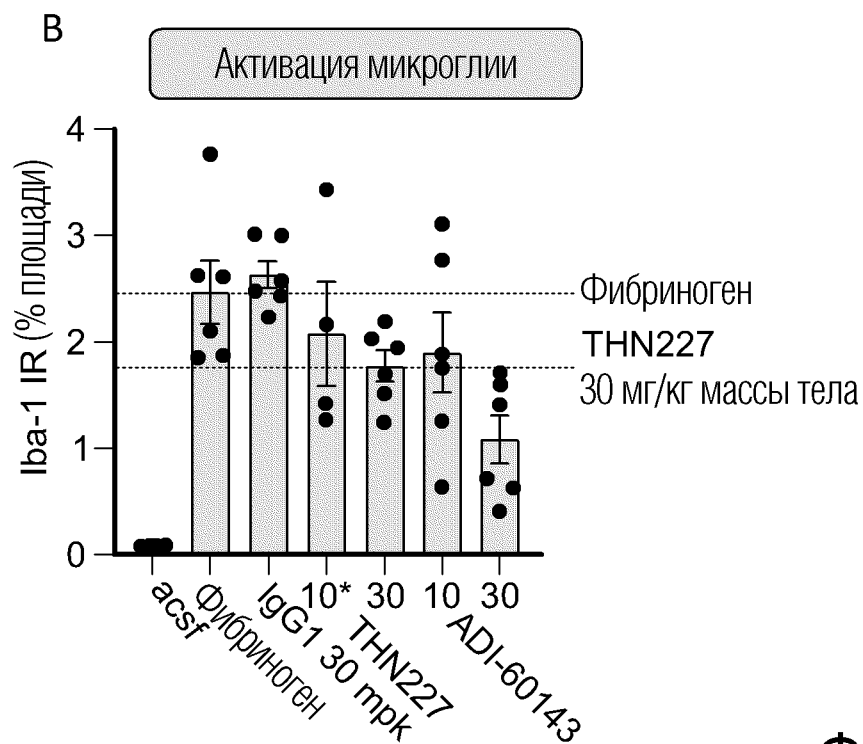
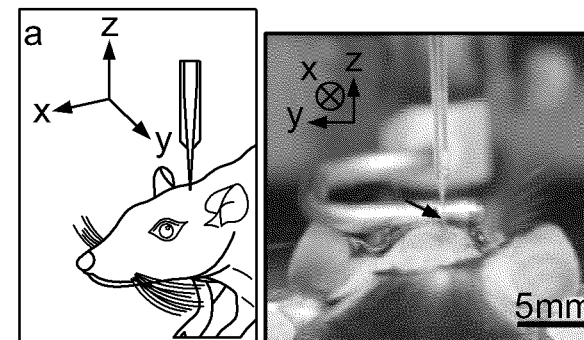
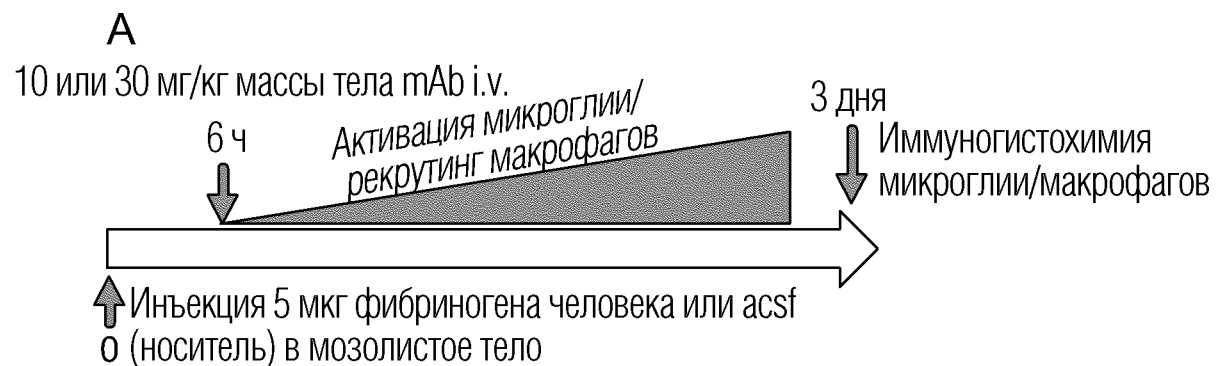
ФИГ. 20

ADI-60143 IgG ELISA



EC50 (нМ)	Человек	Крыса	Кролик
	7.248	139.2	5.972

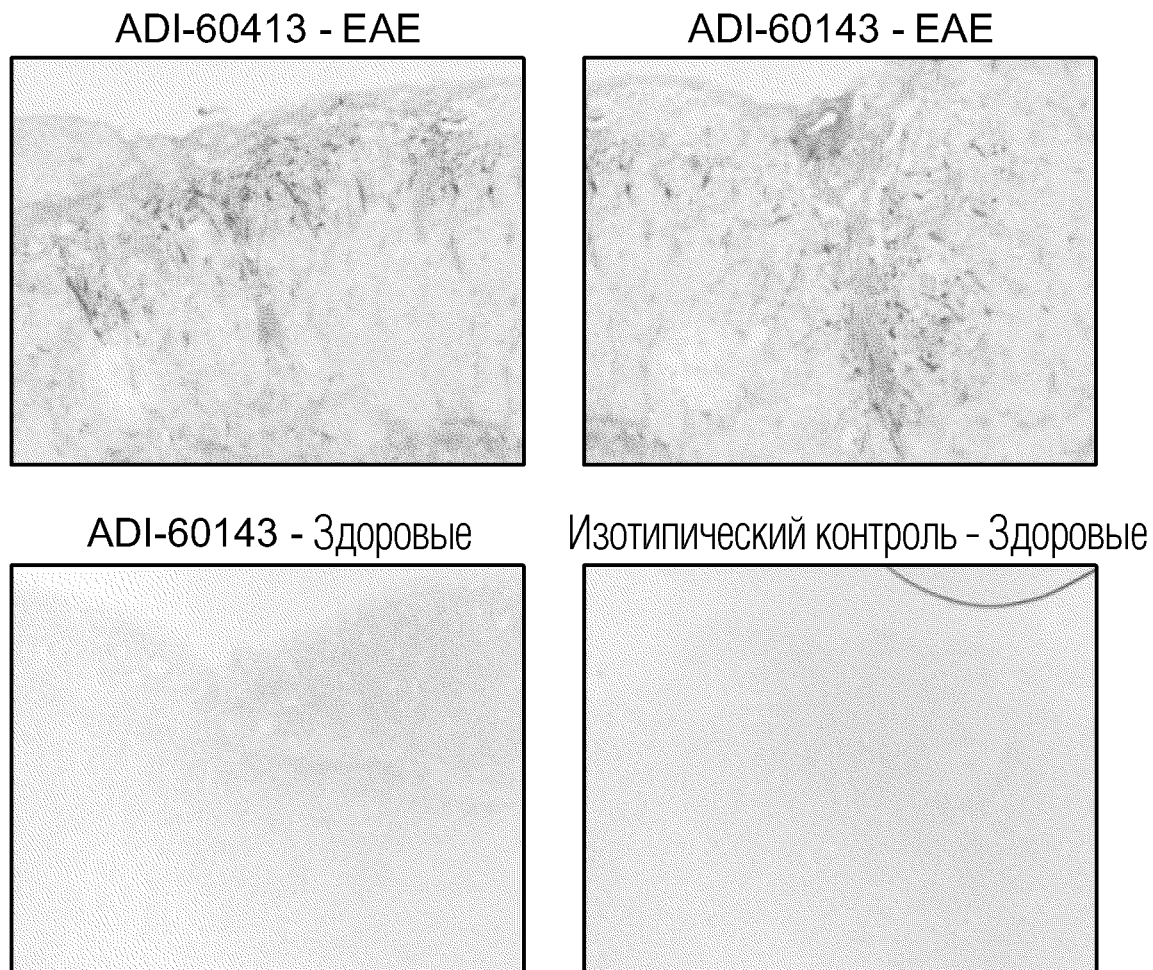
ФИГ. 21



ФИГ. 22

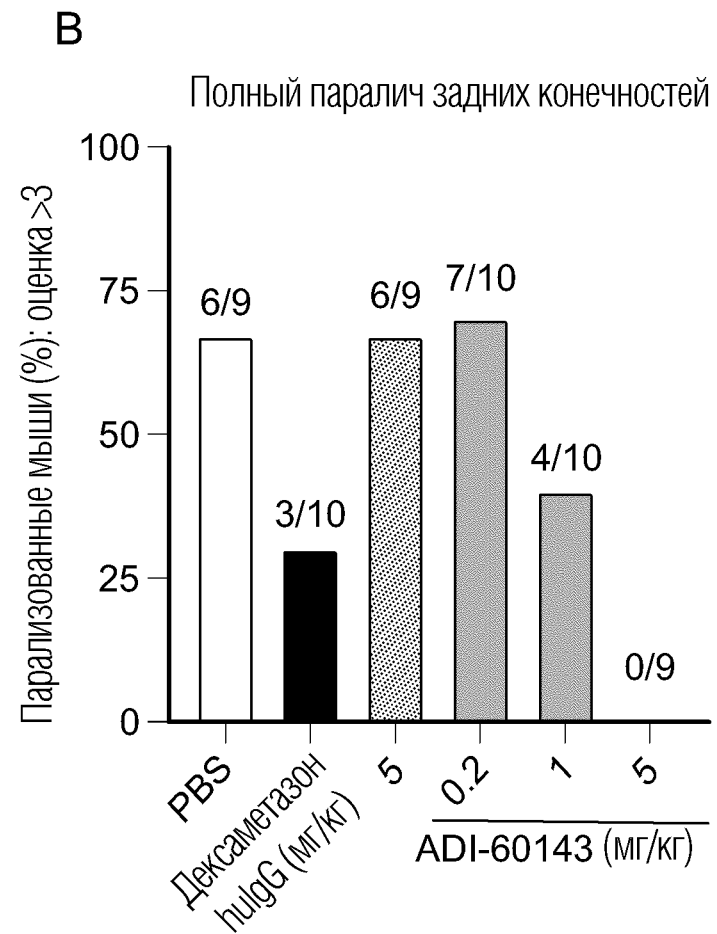
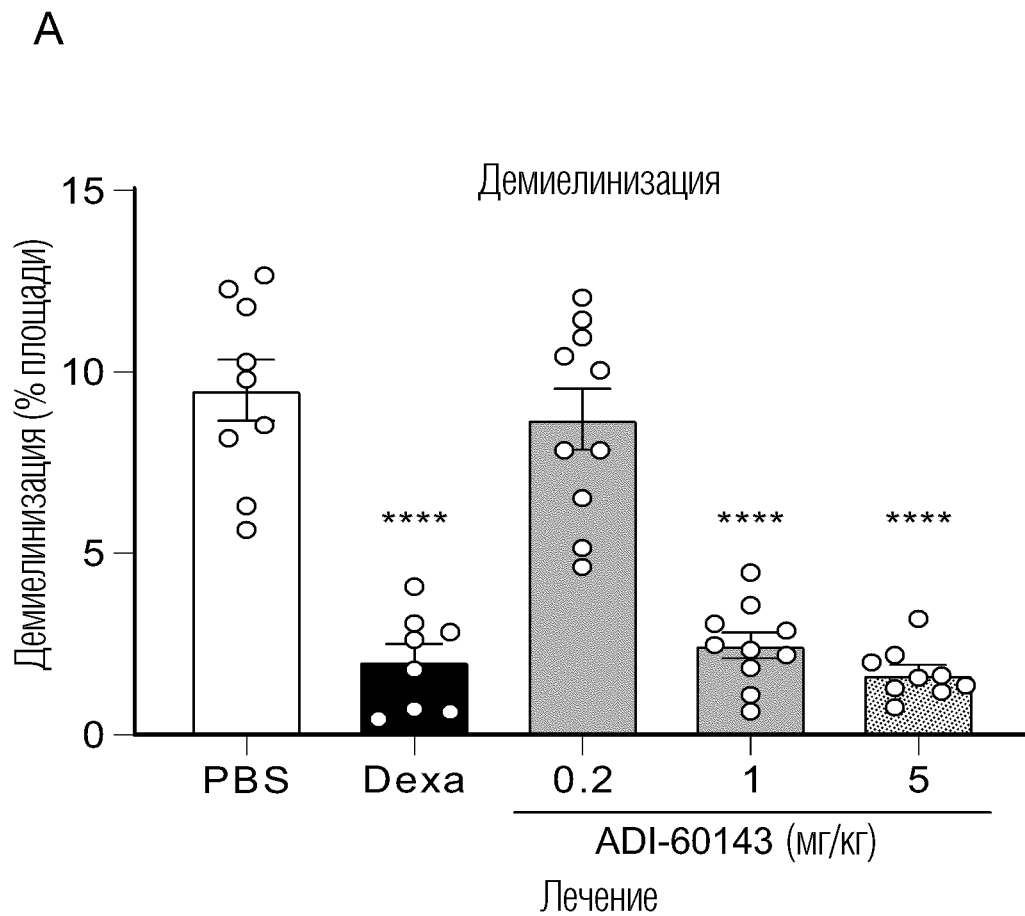
* мертвые животные из-за инъекции фибриногена

Распределение препарата в спинном мозге



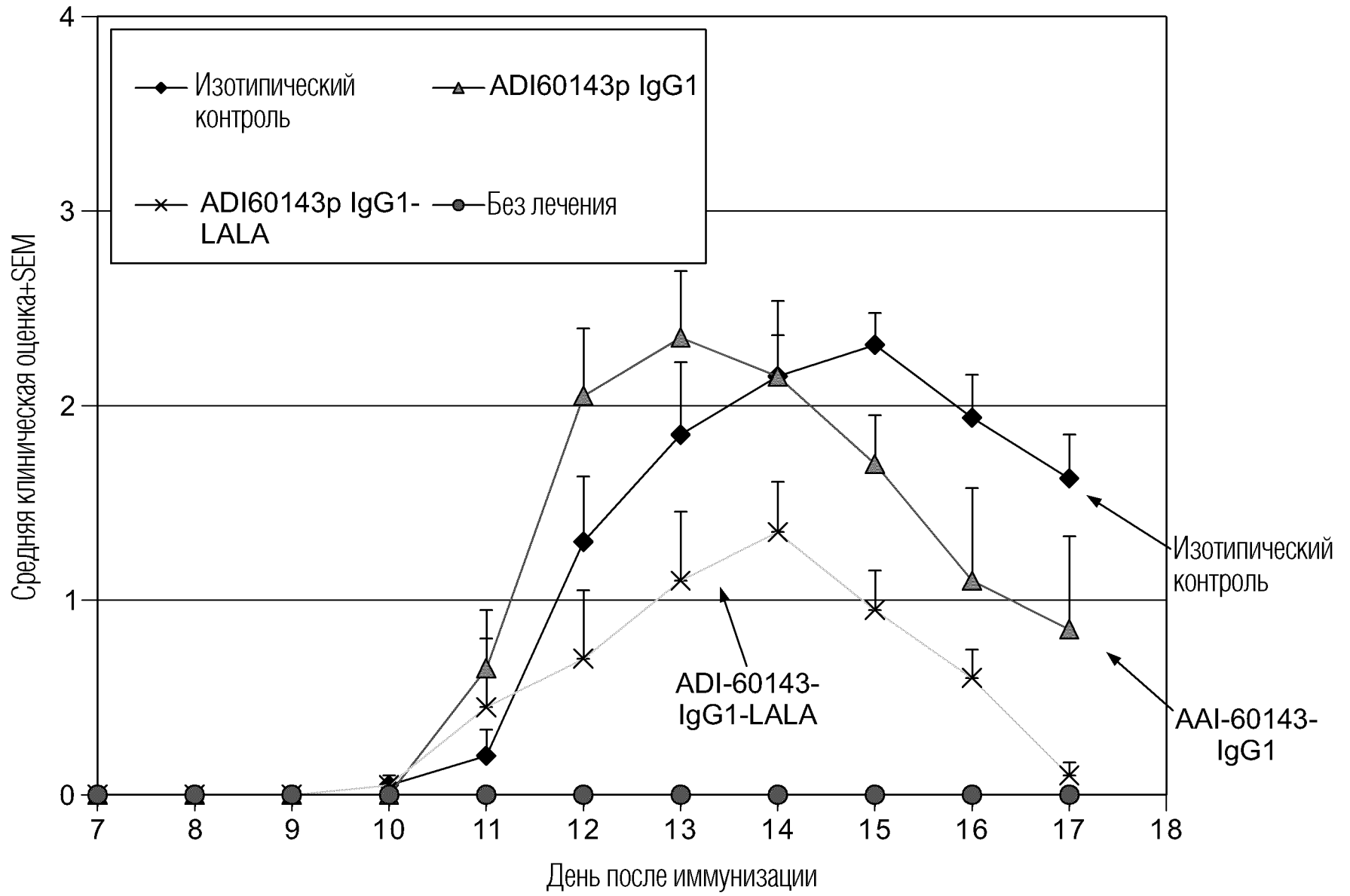
Окрашивание ИНС ткани спинного мозга мышей с EAE
на пике заболевания или здоровых мышей

ФИГ. 23

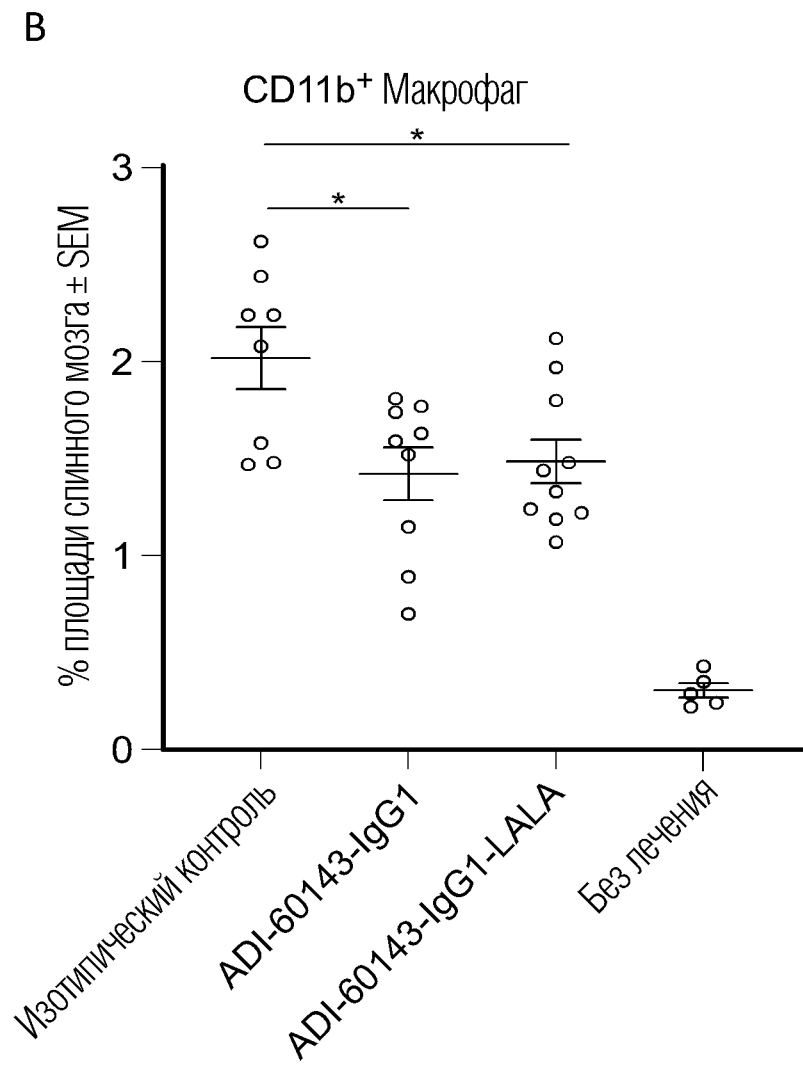
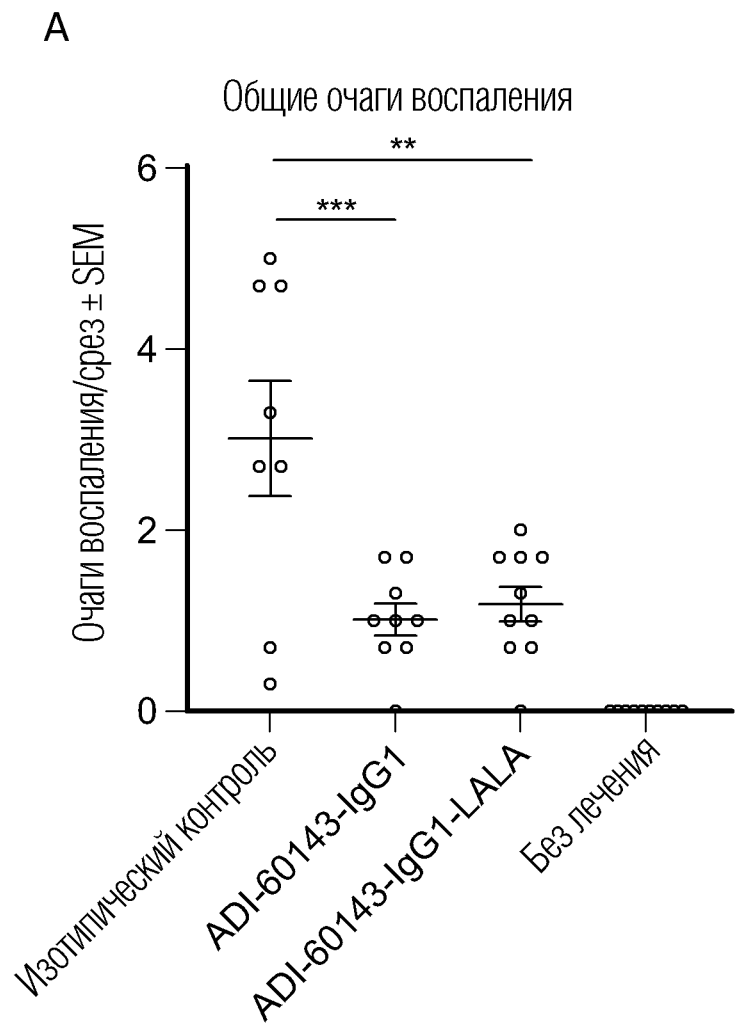


34/37

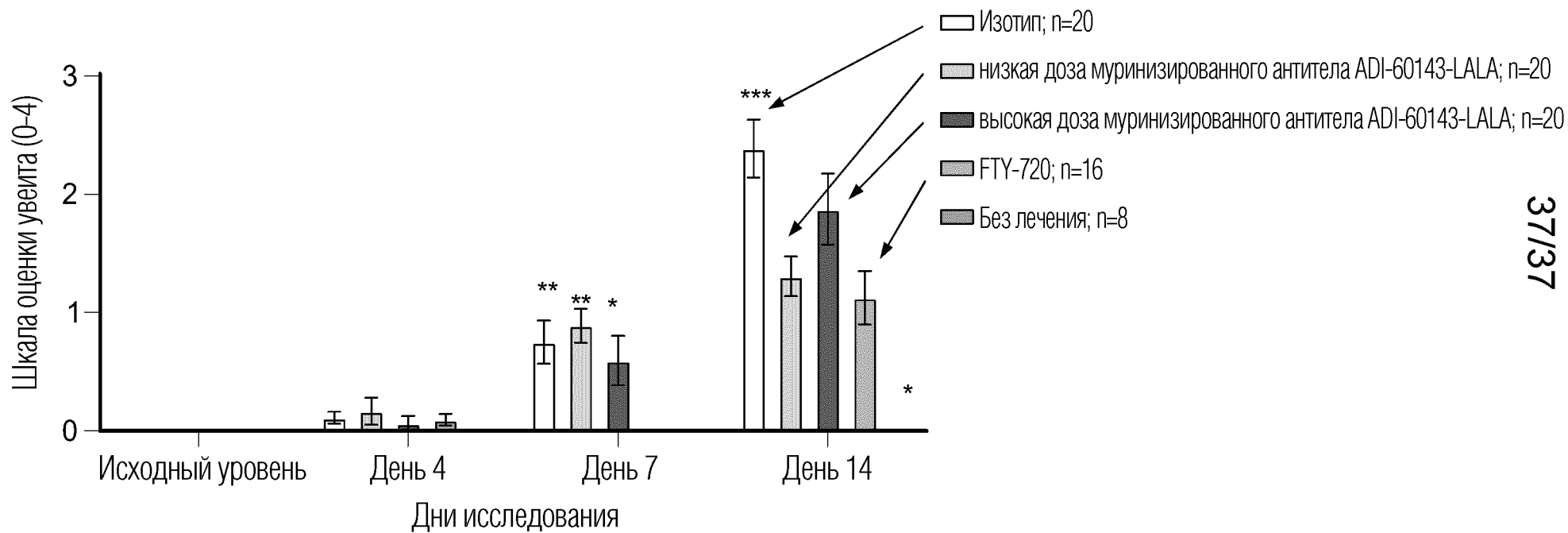
ФИГ. 24



ФИГ. 25



ФИГ. 26



- Обратная зависимость от дозы, исследованная в последующих моделях

ФИГ. 27